

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-
Maximilians-Universität München

Direktor: Herr Prof. Dr. Peter Falkai

Thema der Dissertation:

EPIGENETIK UND SCHIZOPHRENIE:

**QUANTITATIVE UNTERSUCHUNGEN VON GLOBALER DNA-METHYLIERUNG,
GLOBALER DNA-HYDROXYMETHYLIERUNG UND HISTONMODIFIKATIONEN BEI
SCHIZOPHRENEN ERKRANKUNGEN**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von:

Selina Kornbichler

aus München

Im Jahr

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Peter Zill

Mitberichtserstatter: Prof. Dr. Dr. Susanne Lucae

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 01.07.2021

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VIII
TABELLENVERZEICHNIS	X
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XI
1 EINLEITUNG	1
1.1 Ausgangssituation.....	1
1.2 Problemstellung.....	1
1.3 Zielsetzung und konkrete Forschungsfragen.....	2
1.4 Relevanz	2
1.5 Aktueller Forschungsstand	3
1.6 Methodisches Vorgehen	4
2 THEORETISCHER TEIL	5
2.1 Schizophrenie	5
2.1.1 Definition	5
2.1.2 Historie.....	5
2.1.3 Heutiger Wissensstand	6
2.1.4 Einteilung der Schizophrenie	7
2.1.5 Diagnostische Mittel	8
2.1.6 Therapie.....	11
2.2 Epigenetik.....	12
2.2.1 Allgemeine Genetik	12
2.2.2 Definition Epigenetik	13
2.2.3 Epigenetische Veränderungen bei schizophrenen Erkrankungen	16

2.2.4	Epigenetische Ansatzpunkte in der Psychopharmakotherapie von schizophrenen Erkrankungen	18
3	MATERIAL UND METHODEN.....	20
3.1	Untersuchungskollektiv	20
3.2	Untersuchungsablauf	21
3.2.1	Klinisches Interview.....	21
3.2.2	Psychologische Testverfahren.....	21
3.2.3	Blutentnahme	22
3.3	Laborbestimmungen und Testungsverfahren	23
3.3.1	DNA-Präparation	23
3.3.2	Globale DNA-Methylierung	23
3.3.3	Globale DNA-Hydroxymethylierung.....	24
3.3.4	Präparation der Nukleären Extrakte	25
3.3.5	DNA-Methyltransferasen (DNMTs).....	25
3.3.6	Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1 (TET-1)	26
3.3.7	Histonacetyltransferasen (HATs).....	27
3.3.8	Histondeacetylasen (HDACs)	28
3.3.9	H3K4-Methyltransferase.....	29
3.3.10	H3K4 -Demethylase.....	30
3.3.11	Detektion der optischen Dichte	30
3.4	Statistische Methoden.....	31
4	ERGEBNISSE	32
4.1	Stichprobenbeschreibung	32
4.2	Vergleich der epigenetischen Marker zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv	34

4.2.1	Vergleiche der epigenetischen Marker zwischen Patienten und Kontrollen zum Zeitpunkt V0	34
4.2.1.1	Globale DNA-Methylierung.....	34
4.2.1.2	Globale DNA-Hydroxymethylierung.....	35
4.2.1.3	DNMT-Enzymaktivität	37
4.2.1.4	TET-1-Enzymaktivität	38
4.2.2	Vergleiche der epigenetischen Marker zwischen Kontrollen (V0) und Patienten (V3)	40
4.2.2.1	Globale DNA-Methylierung.....	40
4.2.2.2	Globale DNA-Hydroxymethylierung.....	40
4.2.2.3	DNMT-Enzymaktivität	41
4.2.2.4	TET-1-Enzymaktivität	42
4.3	Vergleich der epigenetischen Marker innerhalb des Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0) und nach 6 Wochen (V3).....	44
4.3.1	Globale DNA-Methylierung	44
4.3.2	Globale DNA-Hydroxymethylierung.....	44
4.3.3	DNMT-Enzymaktivität	45
4.3.4	TET-1-Enzymaktivität	46
4.3.5	HAT-Enzymaktivität.....	47
4.3.6	HDAC-Enzymaktivität.....	47
4.3.7	H3K4-Methylase-Aktivität	48
4.3.8	H3K4-Demethylase-Aktivität	49
4.4	Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen epigenetischen Faktoren und Änderungen der Psychopathologie des Patientenkollektivs im Behandlungsverlauf	52
4.4.1	Veränderungen des PANSS-Gesamtwertes	52

4.4.2	Veränderungen des PANSS-Globalwertes.....	52
4.4.3	Veränderungen des PANSS-Positivwertes	53
4.4.4	Veränderungen des PANSS-Negativwertes	54
4.4.5	Responder.....	54
4.4.6	Analyse einer Korrelation zwischen epigenetischen Markern und der Psychopathologie	55
4.5	Korrelationen zwischen traumatischen Kindheitserlebnissen und dem Ausprägungsgrad epigenetischer Faktoren innerhalb der gesunden Kontrollgruppe	58
4.5.1	Emotionale Vernachlässigung.....	59
4.5.2	Emotionaler Missbrauch	59
4.5.3	Sexueller Missbrauch	60
4.5.4	Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch.....	60
5	DISKUSSION	61
5.1	Epigenetische Marker.....	61
5.1.1	Globale DNA-Methylierung	61
5.1.2	Globale DNA-Hydroxymethylierung.....	62
5.1.3	DNMT-Enzymaktivität	63
5.1.4	TET-1-Enzymaktivität	64
5.1.5	HAT-Enzymaktivität.....	65
5.1.6	HDAC-Enzymaktivität.....	66
5.1.7	H3K4-Methylase- und H3K4-Demethylase-Aktivität	67
5.2	Klinischer Verlauf und Korrelationen der Psychopathologie mit epigenetischen Markern	68
5.3	Korrelation Kindheitstraumata und epigenetische Marker	70
5.4	Limitierende Faktoren	72

6	ZUSAMMENFASSUNG.....	74
7	QUELLENVERZEICHNIS	76
8	DANKSAGUNG.....	84
9	AFFIDAVIT.....	85

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 2.1 Diagnosekriterien schizophrener Psychosen laut ICD-10.....	9
Abbildung 2.2 Diagnosekriterien schizophrener Psychosen laut DSM-IV und Gegenüberstellung der Änderungen im DSM-V	10
Abbildung 2.3 Enzymatische Umwandlung von Cytosin zu 5-Methylcytosin über die DNMTs und weiter zu 5-Hydroxymethylcytosin durch die TET-Hydroxylasen	14
Abbildung 2.4 Histonoktamer mit verschiedenen Histonmodifikationen im Überblick.	16
Abbildung 3.1 Indirekter ELISA zur Bestimmung der globalen DNA-Methylierung.....	24
Abbildung 3.2 Direkter ELISA zur Bestimmung der globalen DNA-Hydroxymethylierung.....	25
Abbildung 3.3 Enzymatische Umwandlung von Cytosin zu 5-Methylcytosin durch die DNA-Methyltransferasen, direkter ELISA zur Bestimmung der DNMT-Enzymaktivität	26
Abbildung 3.4 Enzymatische Umwandlung von 5-Methylcytosin zu 5-Hydroxymethylcytosin durch die TET-Hydroxylasen, indirekter ELISA zur Bestimmung der TET-1-Enzymaktivität	27
Abbildung 3.5 Acetylierung eines Lysinrestes durch die Histonacetyltransferasen unter Verbrauch von Acetyl-CoA.	28
Abbildung 3.6 Umwandlung von Methoxycoumarin-Lysin zu deacetyliertem Lys-MCA und weiter zu S-Aminoethylcystein	29
Abbildung 3.7 Indirekter ELISA zur Bestimmung der H3K4-Methyltransferase-Aktivität	29
Abbildung 3.8 Indirekter ELISA zur Bestimmung der H3K4-Demethylase-Aktivität	30
Abbildung 4.1 Gruppenvergleich der globalen DNA-Methylierung zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	35
Abbildung 4.2 Gruppenvergleich der globalen DNA-Hydroxymethylierung zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	36
Abbildung 4.3 Gruppenvergleich der DNMT-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	38
Abbildung 4.4 Gruppenvergleich der TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	39
Abbildung 4.5 Unterschiede der globalen DNA-Methylierung zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0)..	40
Abbildung 4.6 Unterschiede der globalen DNA-Hydroxymethylierung zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0)	41
Abbildung 4.7 Unterschiede der DNMT-Enzymaktivität zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0).....	42
Abbildung 4.8 Unterschiede der TET-1-Enzymaktivität zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0),.....	43
Abbildung 4.9 Zusammenhang der globalen DNA-Methylierung im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	44
Abbildung 4.10 Zusammenhang der globalen DNA-Hydroxymethylierung im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	45

Abbildung 4.11 Zusammenhang der DNMT-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	46
Abbildung 4.12 Zusammenhang der TET-1-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	46
Abbildung 4.13 Zusammenhang der HAT-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	47
Abbildung 4.14 Zusammenhang der HDAC-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	48
Abbildung 4.15 Zusammenhang der H3K4-Methylase-Aktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	48
Abbildung 4.16 Zusammenhang der H3K4-Demethylase-Aktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	49
Abbildung 4.17 Unterschiede der einzelnen epigenetischen Marker des Patientenkollektivs zu den Untersuchung V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)	51
Abbildung 4.18 Zusammenhang der globalen DNA-Methylierung und der PANSS-Positivskala im Patientenkollektiv zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	56
Abbildung 4.19 Zusammenhang der globalen TET-1-Enzymaktivität und der PANSS-Positivskala im Patientenkollektiv zum Zeitpunkt V0 (Baseline)	57

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 4.1 Übersicht über wichtige anamnestische Daten aller Probanden	33
Tabelle 4.2 Globale DNA-Methylierung zum Zeitpunkt V0.....	34
Tabelle 4.3 Globale DNA-Hydroxymethylierung zum Zeitpunkt V0	36
Tabelle 4.4 DNMT-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0.....	37
Tabelle 4.5 Enzymaktivität der TET-1 zum Zeitpunkt V0.....	39
Tabelle 4.6 Globale DNA-Methylierung zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten).....	40
Tabelle 4.7 Globale DNA-Hydroxymethylierung zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten)	41
Tabelle 4.8 DNMT-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten).....	41
Tabelle 4.9 Enzymaktivität der TET-1 zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten).....	42
Tabelle 4.10 Übersicht der 6-wöchigen Verlaufsuntersuchungen der epigenetischen Marker innerhalb der Patientengruppe.....	50
Tabelle 4.11 Übersicht PANSS-Gesamtwerte V0 bis V3.....	52
Tabelle 4.12 Übersicht PANSS-Globalwerte V0 bis V3.....	53
Tabelle 4.13 Übersicht PANSS-Positivwerte V0 bis V3.....	53
Tabelle 4.14 Übersicht PANSS-Negativwerte V0 bis V3	54
Tabelle 4.15 Übersicht über die prozentuale Verbesserung der PANSS-Gesamtwerte der Patienten zu V3	55
Tabelle 4.16 Signifikante Korrelationen nach Spearman zwischen der PANSS-Positivskala und der globalen DNA-Methylierung bzw. der TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0	57
Tabelle 4.17 Prozentuale Verteilung der Ergebnisse des CTQ innerhalb des Kontrollkollektivs	59
Tabelle 4.18 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Emotionale Vernachlässigung" und den jeweiligen epigenetischen Markern.....	59
Tabelle 4.19 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Emotionaler Missbrauch" und den jeweiligen epigenetischen Markern	60
Tabelle 4.20 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch" und den jeweiligen epigenetischen Markern	60

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Acetyl-CoA	Acetyl-CoA carboxylase
AMC	Aminoethylcysteine
Anti-5-hmC	Anti-5-hydroxymethylcytosine
BDI	Beck Depression Inventory
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
CTQ	Childhood Trauma Questionnaire
DNA	Deoxyribonucleic acid
DNMT	DNA methyltransferase
D2R	Dopamine receptor D2
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
GABA	Gamma-Aminobutyric acid
GABRB2	Gamma-Aminobutyric Acid Type A Receptor Beta2 Subunit
GAD	Glutamate decarboxylase
GCortR	Glucocorticoid receptor
HAT	Histone acetyltransferase
HDAC	Histone deacetylase
5-hmC	5-hydroxymethylcytosine
HMT	Histone methyltransferase
HPA	Hypothalamus-pituitary-adrenocortical
HRP	Horseradish Peroxidase
5-HT2	5-hydroxytryptamine-2
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems

Lys(ac)-MCA	Acetylated methoxycoumarin-lysine
Lys-MCA	Deacetylated methoxycoumarin-lysine
5-mC	5-methylcytosine
miRNA	Micro ribonucleic acid
mRNA	Messenger ribonucleic acid
NADH	Nicotinamid Adenin Dinucleotid Hydrid
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PAX Gene	Paired-box-Gene
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
RNA	Ribonucleic acid
SAM	S-Adenosylmethionine
S-COMT	S-Catechol-O-methyltransferase
TET-1	Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1

1 EINLEITUNG

1.1 Ausgangssituation

Schizophrenie ist eine psychiatrische Erkrankung, von der weltweit etwa 1% der Bevölkerung betroffen ist und die nicht nur bei den Betroffenen selbst, sondern auch in deren sozialen Umfeld zu starken Einbußen der Lebensqualität führt (Peedicayil, 2011). Die Lebenszeitprävalenz der Schizophrenie beträgt deutschlandweit bis zu einem Alter von 60 Jahren ca. 0,8%, im Auftreten konnte eine gleichmäßige Geschlechterverteilung festgestellt werden. Die Erstmanifestation der Erkrankung liegt meist zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr, bei zwei Dritteln der Betroffenen vor dem 30. Lebensjahr. Bei Männern tritt die erste Erkrankungsphase im Durchschnitt 3-4 Jahre früher auf als bei Frauen. Betroffene zeigen eine deutlich erhöhte Mortalitätsrate, ihre Lebenserwartung ist um bis zu 20 Jahre reduziert.

Die Gründe hierfür sind multifaktorieller Genese, unter anderem ist die Schizophrenie mit einem gehäuften Auftreten somatischer Erkrankungen, eigener gesundheitlicher Vernachlässigung und einer erhöhten Suizidrate assoziiert. Der Anteil schizophrener Patienten in Psychiatrien beträgt heutzutage ca. ein Drittel des gesamten Patientenkollektivs, das Krankheitsbild zählt unter allen psychiatrischen Erkrankungen zu einem der kostenintensivsten (Hasan et al., 2014).

1.2 Problemstellung

Die Diagnosestellung einer Schizophrenie erfolgt klinisch durch Exploration und körperliche Untersuchung des Patienten. Beurteilt werden bestimmte Symptomgruppen wie beispielsweise Ich-Störungen, Wahn und Halluzinationen innerhalb eines definierten Zeitraumes (siehe Kapitel 2.1.5). Differenzialdiagnostisch müssen vor Diagnosestellung andere psychiatrische oder somatische Erkrankungen ausgeschlossen werden (Dilling et al., 2011). Eine objektivierbare und standardisierte Methode zur Diagnosesicherung einer Schizophrenie ist zum jetzigen Zeitpunkt jedoch nicht verfügbar (Gaebel und Falkai, 2013).

Für die Behandlung einer Schizophrenie stehen primär pharmakologische und psychotherapeutische Therapien zur Verfügung (siehe Kapitel 2.1.6). Aktuell kommt es jedoch trotz dieser Behandlungsmethoden bei 40% der Patienten zu einer starken Einschränkung im privaten (Lebensqualität, Notwendigkeit einer Betreuung), beruflichen (Verlust des Arbeitsplatzes, finanzielle Belastung) und sozialen Bereich (soziale Kontakte, familiäre Belastung). Bei wiederum 30% dieser Patienten ist der Krankheitsverlauf schubförmig, bei den restlichen 10% chronisch progredient mit hoher Therapieresistenz (Hasan et al., 2014).

Einen neuen Ansatz bei der Erforschung der Schizophrenie stellt die Suche nach epigenetischen Biomarkern dar, die zunehmend als regulatives Bindeglied zwischen prädisponierenden Risikogenen

und Umweltfaktoren gelten (Shorter und Miller, 2015). Durch neue Erkenntnisse in diesem Bereich erhofft man sich eine Verbesserung in Bereichen der Früherkennung, Diagnosestellung und Therapie der Erkrankung (Peedicayil, 2008).

1.3 Zielsetzung und konkrete Forschungsfragen

Die Epigenetik stellt einen Mechanismus dar, der die Genregulation reversibel und ohne Veränderung der DNA-Sequenz steuert (siehe Kapitel 2.2.2). Sie spielt eine große Rolle bei der neurobiologischen und kognitiven Entwicklung eines Individuums. Es existieren verschiedene, miteinander interagierende epigenetische Mechanismen, die zunehmend kausal mit der Entstehung einer Schizophrenie in Zusammenhang gebracht werden (Dempster et al., 2013).

In dieser Arbeit sollten folgende Fragestellungen evaluiert werden:

1. Gibt es quantitative Unterschiede im prozentualen Anteil globaler DNA-Methylierung und DNA-Hydroxymethylierung zwischen einem schizophrenen Patienten- und einem nicht an einer Schizophrenie erkrankten (gesunden) Kontrollkollektiv?
2. Existieren Unterschiede in den Enzymaktivitäten der DNA-Methyltransferasen (DNMT) und der TET-1-Hydroxylase (TET-1) zwischen beiden Untersuchungskollektiven?
3. Lassen sich bei Verlaufsuntersuchungen des Patientenkollektivs (bei Aufnahme und nach 6 Wochen Behandlung) Veränderungen sowohl im prozentualen Anteil globaler DNA-Methylierung und globaler DNA-Hydroxymethylierung als auch in den Enzymaktivitäten der DNA-Methyltransferasen, der TET-1-Hydroxylase, der Histonacetylasen (HDAC), der Histonacetyltransferasen (HAT), der H3K4-Methylasen und H3K4-Demethylasen detektieren?
4. Existieren Zusammenhänge oben genannter epigenetischer Faktoren mit der Psychopathologie der Individuen?
5. Gibt es innerhalb der gesunden Kontrollgruppe Korrelationen zwischen traumatischen Kindheitserlebnissen und dem Ausprägungsgrad oben genannter epigenetischer Faktoren?

1.4 Relevanz

Neben den bereits genannten Einbußen der Lebensqualität der Betroffenen und derer Angehöriger zählt die Schizophrenie zu den kostenintensivsten psychiatrischen Erkrankungen, da sie wegen ihrer Krankheitscharakteristika (z.B. Erstmanifestation meist in jungen Jahren, hohe Therapiekosten, hohe Rückfallquote, häufige Frühberentung) mit enormen direkten und indirekten Kosten verbunden ist (Gaebel und Wölwer, 2010). Über 80 % der Erkrankten sind nur teilzeit- oder gar nicht beschäftigt, weltweit zählt die Schizophrenie zu den am häufigsten zur Invalidisierung führenden Erkrankungen.

Man geht davon aus, dass 10% der unter den bisherigen Therapiemöglichkeiten bestmöglich eingestellten Patienten dennoch dauerhaft beruflich eingeschränkt sind (Hasan et al., 2014). Für das Jahr 2012 wurde die Beschäftigungsrate von an Schizophrenie erkrankten Personen in westlichen Ländern auf 12 – 39 % geschätzt (Evensen et al., 2016).

Die Erforschung potentieller epigenetischer Einflussfaktoren auf die Entstehung und den Verlauf von Schizophrenien stellt eine Möglichkeit dar, Diagnostik und Therapie der Erkrankung zu optimieren und somit sowohl die Behandlungsmöglichkeiten und die Lebensqualität der Patienten zu verbessern als auch langfristig durch die Entwicklung neuer medikamentöser Ansatzpunkte eine Kosteneinsparung zu bewirken.

1.5 Aktueller Forschungsstand

In den letzten Jahren ist die Anzahl an Studien, die sich mit dem Zusammenhang von Epigenetik und Schizophrenie beschäftigen, exponentiell angestiegen. Dennoch ist es zum jetzigen Zeitpunkt nur begrenzt möglich, konkrete Aussagen zum Einfluss epigenetischer Biomarker auf die Entwicklung dieser Erkrankung zu treffen. Probleme hierbei stellen zum einen die große Vielzahl möglicher Genloci bzw. epigenetischer Mechanismen, zum anderen Schwierigkeiten bei der Gewinnung aussagekräftiger Untersuchungsproben dar. Es existieren viele retrospektive Fall-Kontroll-Studien zu post-mortem Untersuchungen bestimmter Gehirnareale. Bei diesem Studientyp kann das primär durch die Erkrankung betroffene Gewebe (Gehirn) direkt untersucht werden, jedoch beeinträchtigen post-mortem Veränderungen die Resultate. Da eine epigenetische in vivo Untersuchung des Gehirns nicht möglich ist, wird zunehmend auf Probenmaterialien zurückgegriffen, die besser zugänglich sind. Derzeitige Studien befassen sich mit der Übereinstimmung epigenetischer Veränderungen von peripheren Blut- und Gehirnzellen (Dempster et al., 2013).

Hierbei konnten Übereinstimmungen der DNA-Methylierungsmuster einiger Gene von Gehirn- und Blutzellen desselben Individuums gefunden werden. Dies legt die Vermutung nahe, dass epigenetische Veränderungen Gehirn- und Blutzellen gleichermaßen beeinflussen, weswegen heutige epigenetische Studien auch auf der Basis peripherer Blutzellen erfolgen können. Noch zu klären ist, ob verhaltensbeeinflussende und neuronenspezifische epigenetische Veränderungen, die bei der Entwicklung einer Schizophrenie eine Rolle spielen, auch in peripheren Blutzellen stattfinden. Darüber hinaus stellt die kurze Lebensdauer der Blutzellen und die fragliche Konstanz epigenetischer Veränderungen während der Zellteilungen einen Nachteil bei der Verwendung peripherer Blutzellen als Untersuchungsmaterial dar. Auch scheinen sich laut einigen Studien die Methylierungsmuster verschiedener Populationen einer Blutzelllinie zu unterscheiden. Nichtsdestotrotz konnte in Studien gezeigt werden, dass einige mit der Schizophrenie korrelierende epigenetische Veränderungen parallel in Gehirnzellen und Lymphozyten stattfinden (Guidotti et al., 2014).

Bei vielen der bisher durchgeführten Studien konnten signifikante Korrelationen zwischen der Erkrankung an einer Schizophrenie und bestimmten epigenetischen Veränderungen festgestellt werden (siehe Kapitel 2.2.3). Fraglich ist jedoch, ob epigenetische Veränderungen die Erkrankung kausal bedingen oder umgekehrt. Ebenso zu klären ist der Einfluss exogener Umweltfaktoren auf Veränderungen der Epigenetik. Dies kann durch Zwillingsforschung genauer untersucht werden (Dempster et al., 2013).

1.6 Methodisches Vorgehen

Für die vorliegende Studie wurde ein Probandenkollektiv von 200 Personen im Alter zwischen 18 und 70 Jahren rekrutiert. Nach Ausschluss der drop outs ergab sich eine Stichprobe von 176 Probanden. Bei 88 der Probanden war eine Schizophrenie vordiagnostiziert, die restlichen 88 Probanden waren zum Untersuchungszeitpunkt nicht an einer Schizophrenie erkrankt. Ausschlusskriterium der gesunden Probanden stellte eine familiäre Prädisposition in Form einer Schizophrenie, einer bipolaren Störung oder einer Depression bei Verwandten 1. Grades dar.

Zur Durchführung der Studie wurden nach ausführlicher Eigen- und Familienanamnese jedes Probanden in der gesunden Kontrollgruppe zwei Selbsteinschätzungsfragebögen, der Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) und das Beck Depression Inventory II (BDI-II), und im Patientenkollektiv die Positive and Negative Syndroms Scale (PANSS) erhoben. Zudem erfolgte die Entnahme von ca. 40 ml venösem Blut. Die Blutproben wurden im Anschluss laborchemisch auf quantitative Unterschiede spezifischer epigenetischer Marker (siehe Kapitel 1.3) zwischen den Vergleichsgruppen untersucht, die Fragebögen standardisiert ausgewertet (siehe Kapitel 3.2). Bei der an einer Schizophrenie erkrankten Probandengruppe erfolgte eine laborchemische Verlaufsuntersuchung der epigenetischen Marker nach 6 Wochen, zudem die erneute Erhebung der Positive and Negative Syndroms Scale 2, 4 und 6 Wochen nach stationärer Aufnahme.

2 THEORETISCHER TEIL

2.1 Schizophrenie

2.1.1 Definition

Die Schizophrenie wird in der „International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems“ (ICD-10) der Gruppe der F2-Diagnosen zugeordnet, zu denen die Schizophrenie, die schizotype und die wahnhaften Störungen zählen, wobei die Schizophrenie unter ihnen die häufigste Erkrankung darstellt.

Merkmale der Schizophrenie sind von der Norm abweichende, oft bizarr anmutende Veränderungen der Wahrnehmung, des Denkens, der Affektivität und des Handelns. Zu den eindeutigen Symptomen einer Schizophrenie zählen die sogenannten Ich-Störungen, Wahnwahrnehmungen, akustische Halluzinationen und der bizarre Wahn. Zusätzliche Symptome können Halluzinationen anderer Sinnesmodalitäten, Katatonie, Negativsymptomatik oder formale Denkstörungen sein (siehe Kapitel 2.1.4) (Dilling et al., 2011).

2.1.2 Historie

Historisch beschrieben wurde die Schizophrenie bereits 1896, als Emil Kraepelin das Zustandsbild der Patienten als „Dementia praecox“ („vorzeitige Verblödung“) bezeichnete. Aufgrund ähnlicher Krankheitsverläufe und Endzustände fasste er unter dem Begriff der „Dementia praecox“ folgende vorbeschriebene Krankheitsbilder zusammen: die „Dementia hebephrenica“ von Ewald Hecker und die „Dementia catatonica“ und „Dementia paranoides“ von Karl Ludwig Kahlbaum. Während der Begriff der „Dementia hebephrenica“ einen Symptomenkomplex aus albernem, situativ nicht angepasstem Verhalten, Antriebsmangel, zunehmender gefühlsmäßiger Indifferenz und einer früh beginnenden Demenz beschreibt, ist die „Dementia catatonica“ durch motorischen Raptus bzw. Stupor, die „Dementia paranoides“ durch paranoiden Wahn bzw. Halluzinationen und zunehmenden kognitiven Verlusten gekennzeichnet. Diese drei Formen stellen auch heutzutage noch Untergruppen der Schizophrenie dar. Für Kraepelin bestanden die Symptome der „Dementia praecox“ folglich aus Antriebsmangel, Teilnahmslosigkeit, Indifferenz, Halluzinationen, Wahn und Denkstörungen. An Krankheitsverläufen wurden sowohl langsam beginnende Krankheitsphasen mit chronischem Verlauf als auch kurze Krankheitsphasen mit akut auftretenden psychotischen Symptomen beschrieben. Allen Verläufen gemeinsam war der zunehmende geistige Verfall. Die Ätiologie der Erkrankung war zu damaligen Zeiten noch nicht bekannt (Häfner, 2001).

Eugen Bleuler ersetzte 1911 den Begriff der „Dementia praecox“ durch den heutigen Begriff der „Schizophrenie“, der sich aus dem Griechischen ableitet von „schizo“ = „ich spalte“ und „phren“ = „Geist, Verstand“. Bei diesem Krankheitsbild komme es klassischerweise zu einer Separation von Denken, Fühlen und Handeln (Brath, 2007). Kurt Schneider teilte zur besseren diagnostischen

Systematisierung die Symptome in solche ersten und zweiten Ranges ein. E. Bleulers und K. Schneiders Einteilungen der Symptomatik haben bis heute Bestand (siehe Kapitel 2.1.4) (Möller, 2015).

2.1.3 Heutiger Wissensstand

Das Krankheitsbild der Schizophrenie ist seit den Anfängen seiner Entdeckung weiter erforscht worden. Bzgl. der Entstehung der Schizophrenie wird heutzutage folgendes angenommen: Es handelt sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung, die insbesondere durch eine genetische Prädisposition begünstigt wird. Hinweise hierfür liefern Familien- und Zwillingsstudien. Das Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, ist signifikant erhöht bei Personen mit positiver Familienanamnese. Während die Lebenszeitprävalenz in der Normalbevölkerung bei rund 1% liegt, steigt sie bei Kindern mit zwei betroffenen Elternteilen auf ca. 40% an (Möller, 2015). Es scheint sich um eine polygene Vererbung zu handeln, die Arbeitsgruppe Schizophrenie des Psychiatric Genomics Consortium konnte statistische Zusammenhänge zwischen 108 Genloci und einem erhöhten Erkrankungsrisiko für Schizophrenie finden. Die Mehrheit dieser Genloci befinden sich in nicht-kodierenden DNA-Abschnitten, beeinflussen also nicht direkt die Proteinsynthese. Dies legt die Vermutung nahe, dass neben genetischen Einflussfaktoren auch neuroepigenetische Regulationsmechanismen eine Rolle spielen (Fullard et al., 2016). In Zwillingsstudien beträgt bei zweieiigen Zwillingen die Konkordanzrate ca. 15%, bei eineiigen Zwillingen bereits ca. 50%. Dass die Penetranz bei eineiigen Zwillingen jedoch keine 100% beträgt, lässt ebenfalls darauf schließen, dass für die Manifestation einer Schizophrenie außer einer genetischen Prädisposition weitere auslösende Reize nötig sind (Möller, 2015; Auta et al., 2013). Erklären lässt sich dies anhand des Vulnerabilitäts-Stress-Modells: Laut dem Vulnerabilitäts-Stress-Modell nach J. Zubin kann prinzipiell jedes Individuum in Abhängigkeit seiner anlagebedingten Vulnerabilität und der äußeren Reize, die als sogenannte Stressoren auf es einwirken, eine Psychose entwickeln. Vulnerabilität meint eine individuelle Verletzbarkeit, d.h. die individuelle Anfälligkeit, eine bestimmte Krankheit zu entwickeln. Mit äußeren Reizen sind beispielsweise psychosoziale oder finanzielle Stressoren gemeint. Die Entwicklung einer Erkrankung ist also als ein Zusammenwirken endogener und exogener Faktoren zu verstehen, die sich gegenseitig beeinflussen können. Das bisherige Modell wurde weiter entwickelt zum sogenannten Vulnerabilitäts-Stress-Bewältigungs-Modell, in dem zudem protektive Faktoren wie Bewältigungsmechanismen des Individuums und Hilfestellungen des sozialen Umfeldes mitberücksichtigt werden (Pipam, 2006). Die Vulnerabilität stellt bei der Schizophrenie die genetische Prädisposition dar, als exogene Faktoren werden mütterliche Ernährung und Stress während der Schwangerschaft, perinatale Infektionen oder Schädigungen, psychosoziale Belastungen (niedriger sozialer Status, physische oder psychische Kindheitstraumata, Stress und Anspannung im Alltag, emotionale Belastungen), strukturelle Veränderungen des Gehirns und Störungen in der Aktivität verschiedener Neurotransmitter (Dopamin-Hypothese) diskutiert (Möller, 2015; Read et al., 2009).

2.1.4 Einteilung der Schizophrenie

Es existieren zwei operationalisierte Klassifikationssysteme: die „International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems“ (ICD-10), welche von der WHO eingeführt und für Deutschland als das verbindliche Klassifikationssystem festgelegt wurde, und das „Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders“ (DSM-V) aus den USA. Da der Zeitpunkt der Datenerhebung dieser Studie vor dem Erscheinungsjahr des DSM-V im Mai 2013 lag, wurden in dieser Arbeit die Kriterien des DSM-IV angewandt und werden auch im Folgenden beschrieben. Eine Übersicht über die aktuellen Änderungen des DSM-V werden jedoch in Abbildung 2.2 dargestellt.

Die heutige, für die Diagnosestellung entscheidende Symptomatik der Schizophrenie leitet sich unter anderem von zwei Konzepten ab: Eugen Bleulers Einteilung in Grund- und akzessorische Symptome und Kurt Schneiders Konzept der Symptome ersten und zweiten Ranges. Nach Bleuler zählen formale Denkstörungen, Antriebsstörungen, Störungen der Affektivität und Autismus zu den Grundsymptomen, Wahn, Halluzinationen und katatone Störungen zu den akzessorischen Symptomen. Schneider differenzierte zwischen Symptomen ersten Ranges wie z.B. Wahnwahrnehmung, akustische Halluzinationen, Gedanken-laut-Werden und Fremdbeeinflussung der Gedanken und Symptomen zweiten Ranges wie z.B. Wahneinfall, Affektveränderungen und anderen Halluzinationen. Irrtümlicherweise werden für die Diagnose einer Schizophrenie oftmals Wahn oder Halluzinationen vorausgesetzt. Es gibt jedoch auch Schizophrenien, die zu keinem Zeitpunkt diese Symptomatik aufweisen.

Zusätzlich zu Bleulers und Schneiders Symptomkategorien existiert heutzutage die Einteilung in eine Positiv- und Negativsymptomatik, wobei die Positivsymptomatik Symptome wie Halluzinationen und Wahn miteinschließt, also Phänomene, die bei Nicht-Erkrankten normalerweise nicht vorhanden sind, während die Negativsymptomatik einen Mangel an üblicherweise vorhandenen Eigenschaften bedeutet, die Patienten sind beispielsweise affekt- oder antriebsarm.

Bei schizophrenen Erkrankungen unterscheidet man mehrere Subtypen, welche sich zwischen den beiden Klassifikationssystemen (ICD-10 und DSM-IV) teilweise unterscheiden. Gemeinsamen Nenner bilden die klassischen Subtypen (siehe Kapitel 2.1.2), welche nachfolgend näher betrachtet werden sollen.

1. Paranoide Schizophrenie (ICD-10: F20.0) / Paranoider Typ (DSM-IV: 295.30): Diese Form stellt den häufigsten Subtyp schizophrener Psychosen dar und äußert sich hauptsächlich durch wiederkehrende Wahnhinhalte und Wahrnehmungsstörungen.
2. Hebephrene Schizophrenie (ICD-10: F20.1) / Desorganisierter Typ (DSM-IV: 295.10): Die Erstmanifestation liegt meist im Adoleszentenalter. Dominierend sind Veränderungen des Affekts wie inadäquate, läppische Grundstimmung oder Anhedonie und fahrlässiges Verhalten.
3. Katatone Schizophrenie (ICD-10: F20.2) / katatoner Typ (DSM-IV: 295.20): Hauptmerkmal sind psychomotorische Störungen, die von starker Erregung zu vollkommener Erstarrung wechseln

können. Die jeweiligen Zwangszustände bestehen teilweise über einen langen Zeitraum. Zudem kommt es zu Stereotypen und Negativismen. Dieser Typus ist relativ selten, es kann jedoch zu lebensbedrohlichen Komplikationen kommen (Möller, 2013).

Im DSM-V entfällt die Unterscheidung in verschiedene Subtypen, Schizophrenie ist unter der 295.90 (ICD-10: F20.9) kategorisiert (American Psychiatric Association, 2013).

2.1.5 Diagnostische Mittel

Das diagnostische Vorgehen bei Verdacht auf eine Schizophrenie beinhaltet eine vollständige Eigen- und Familienanamnese, eine körperliche Untersuchung, die Erstellung eines psychopathologischen Befundes und den Ausschluss anderweitiger somatischer und psychiatrischer Ursachen der Symptomatik durch spezielle Untersuchungen. Sobald Hinweise auf eine somatische Erkrankung des Gehirns oder eine andere, das Gehirn schädigende Allgemeinerkrankung vorliegen, darf die Diagnose einer Schizophrenie nicht gestellt werden (Möller, 2015).

Mittels eines psychopathologischen Befundes sollen psychische Merkmale eines Patienten beschrieben werden, um somit ggf. Hinweise auf ein bestimmtes Krankheitsbild zu erhalten. Zur Erhebung eines psychopathologischen Befundes gehört sowohl ein Arzt-Patienten-Gespräch als auch eine aufmerksame Beobachtung des Verhaltens und der Psychomotorik des Patienten. Die Psychopathologie eines Patienten kann im Verlauf der Therapie in bestimmten zeitlichen Abständen neu evaluiert und somit die Therapie kontrolliert und angepasst werden. Die Psychopathologie gilt als sensitivstes diagnostisches Mittel zur Erkennung erster Symptome einer Schizophrenie (Reischies, 2007). Der Untersucher beurteilt durch die Psychopathologie die im Folgenden aufgeführten Merkmale: Bewusstseinslage (quantitativ und qualitativ), Orientierung, Gedächtnisleistung, Aufmerksamkeit, formale Denkstörungen, Affektivität, Wahrnehmung der Umgebung (Halluzinationen, Wahn), Angst- oder Zwangsstörungen, Psychomotorik, Ich-Störungen und zirkadiane Besonderheiten des Auftretens der vorhandenen Symptome. Zudem werden andere auffällige Verhaltensmuster dokumentiert wie mangelnde Krankheitseinsicht, soziale Isolation, auffällige Verhaltensmuster oder Selbstverletzungstendenzen (Paulzen und Schneider, 2011).

Die diagnostischen Leitlinien schizophrener Psychosen nach ICD-10 und DSM-V sind in Abbildung 2.1 und Abbildung 2.2 dargestellt.

ICD-10

Mindestens ein eindeutiges Symptom der Gruppen 1-4 (zwei, falls nicht ganz eindeutig):

1. Gedankeneingebung, -entzug, -lautwerden oder -ausbreitung
2. Gefühl des Gemachten, Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Wahnwahrnehmungen
3. Stimmenhören (kommentierend oder dialogisierend)
4. Anhaltender, bizarrer (unrealistischer), kulturell nicht angemessener Wahn

Oder mindestens zwei Symptome aus den Gruppen 5-8:

5. Anhaltende Halluzinationen jeglicher Sinnesmodalität, täglich über Wochen oder Monate
6. Gedankenabreißen, Danebenreden, Neologismen, Zerfahrenheit
7. Katatonie (Erregung, Negativismus, Stupor, Haltungsstereotypien)
8. Negativsymptomatik

Die Diagnose ist nur zu stellen, wenn die Symptomatik über einen Zeitraum von mindestens einem Monat fast andauernd aufgetreten ist und eine somatische Ursache ausgeschlossen werden konnte. Bei auffallender depressiver und/oder manischer Symptomatik muss differenzialdiagnostisch eine affektive bzw. eine schizoaffective Störung in Erwägung gezogen werden.

Abbildung 2.1 Diagnosekriterien schizophrener Psychosen laut ICD-10 (Dilling et al., 2011)

DSM IV	DSM V
A. Mindestens zwei der Symptome 1-5, jedes bestehend für einen erheblichen Teil der Zeitspanne von 1 Monat (oder weniger, falls erfolgreich behandelt)	<u>Ergänzung:</u> Vorliegen mindestens eines der Symptome 1-3
<ol style="list-style-type: none"> 1. Wahn 2. Halluzinationen 3. desorganisierte Sprechweise 4. grob desorganisiertes oder katatones Verhalten 5. negative Symptome 	
Bei bizarrem Wahn oder dialogisierenden bzw. kommentierenden Stimmen ist ein Gruppe - A - Kriterium ausreichend.	Entfällt
B. Soziale oder berufliche Leistungseinbußen in den Lebensbereichen Arbeit, zwischenmenschliche Beziehungen oder Selbstfürsorge.	Keine Änderung
C. Das Störungsbild hält mindestens 6 Monate an, wobei mindestens 1 Monat mit florider Symptomatik (Symptome 1-5) bestehen muss (kürzer bei erfolgreicher Behandlung). Innerhalb der 6 Monate kann es zu Prodromal- oder Residualphasen kommen.	Keine Änderung
D. Differentialdiagnostischer Ausschluss einer affektiven oder schizoaffectiven Störung.	Keine Änderung
E. Ausschluss einer Intoxikation oder anderweitigen somatischen Erkrankung als Ursache des Störungsbildes.	Keine Änderung
F. Vorliegen einer Autismus-Spektrum-Störung in der Vorgeschichte: zusätzliche Vergabe einer Schizophreniediagnose nur bei ausgeprägten Wahnphänomenen oder Halluzinationen (zusätzlich zu den anderen erforderlichen Symptomen) für mindestens 1 Monat (oder weniger, falls erfolgreich behandelt)	Ergänzung: ebenso bei Vorliegen einer Kommunikationsstörung mit Beginn im Kindesalter

Abbildung 2.2 Diagnosekriterien schizophrener Psychosen laut DSM-IV (Sass et al., 2003) und Gegenüberstellung der Änderungen im DSM-V (American Psychiatric Association, 2013)

2.1.6 Therapie

Zur Behandlung einer schizophrenen Erkrankung existiert ein multimodales Konzept, welches neben einer Psychopharmakotherapie sowohl Psycho- als auch Soziotherapie mit einbezieht. Die Therapie kann ambulant oder stationär erfolgen (Möller, 2015).

Man unterscheidet bei der Pharmakotherapie zwischen Akut- und Langzeittherapie. In der Akutsituation ist neben der Schaffung einer guten Arzt-Patienten-Beziehung eine angemessene antipsychotische Therapie angezeigt. Bei Neuroleptika werden „klassische“ (Typika) von „atypischen“ (Atypika) Präparaten unterschieden: Beide Gruppen wirken hauptsächlich durch eine Inhibition des D2R (Dopamin-Rezeptor), atypische Neuroleptika jedoch zusätzlich durch Inhibition des 5-HT₂-Rezeptors (Serotonin-Rezeptor). Der Vorteil der neueren, atypischen Wirkstoffe liegt in einer Verminderung der extrapyramidal-motorischen Nebenwirkungen. Sie besitzen jedoch andere individuelle Nebenwirkungsprofile, die z.B. zu Gewichtszunahme oder EKG-Veränderungen führen können. Sowohl die klassischen als auch die atypischen Neuroleptika weisen gute Wirkungen im Bereich der Produktivsymptomatik einer Schizophrenie auf. Bei beiden Gruppen existieren hoch- und niedrigpotente Wirkstoffe. Als Ergänzung können bei einem floriden psychotischen Zustandsbild Benzodiazepine zum Einsatz kommen. Diese wirken anxiolytisch und sedierend. Benzodiazepine sind aufgrund ihres Suchtpotentials nur mit Bedacht und kurzfristig einzusetzen.

Die Langzeittherapie schizophrener Patienten ist aufgrund hoher Rezidivraten von großer Bedeutung. Laut Studienergebnissen kann die kontinuierliche Einnahme eines niedrigdosierten Neuroleptikums ein Rezidiv bei 70-80% der Betroffenen verhindern, was bei Kontrollgruppen mit Placebo-Einnahme bei nur 20-30% der Fall ist. Die Langzeittherapie erfolgt in der Regel oral, bei fehlender Compliance des Patienten stehen Depot-Präparate zur Verfügung, die intramuskulär verabreicht werden können. Empfohlen wird eine Akuttherapie mit hochpotenten Neuroleptika von 4-8 Wochen mit dem Ziel der Remission der floriden Symptomatik. Darauf folgt eine Erhaltungstherapie mit gleichbleibender Dosierung für 3-6 Monate, die zu einer vollständigen Remission der Symptome führen soll. Hieran schließt sich eine Langzeittherapie an, deren Dauer von der Häufigkeit des Auftretens psychotischer Episoden und der Verträglichkeit der Medikation durch den Patienten abhängt. Insgesamt kann ein besserer Outcome bei dauerhafter, niedrigdosierter Therapie im Vergleich zu vielfach wiederholtem Ansetzen und Ausschleichen der Medikation beobachtet werden. Bezüglich der Medikamentendosierungen existieren Empfehlungen, die genaue Dosisfindung erfolgt jedoch individuell unter Berücksichtigung des Befindens des Patienten und des Medikamentenspiegels im Blut. Auch unter ideal eingestellter Medikation kann es zu Rezidiven kommen. Dies wird in Zusammenhang mit psychosozialen Belastungen gesehen (exogene Stressfaktoren, siehe Kapitel 2.1.3). Da manche Patienten auf gewisse Wirkstoffe nur teilweise oder überhaupt nicht ansprechen, muss der Therapieverlauf genau beobachtet und bei fehlender Wirkung die Umstellung auf ein anderes Neuroleptikum erwogen werden. Bei Therapieresistenz muss die Compliance des Patienten, die Einnahme interagierender Substanzen und das Vorhandensein exogener Stressreize beurteilt werden.

Die Psychotherapie setzt hauptsächlich nach Abklingen der floriden Symptomatik an. Inhalte stellen eine psychoedukative Erarbeitung des Krankheitsbildes (Ursache, Früherkennung von Symptomen, Rezidivprophylaxe und Therapiemöglichkeiten), das Erlernen bestimmter Fertigkeiten zum Stressabbau und ggf. die Einleitung geeigneter Rehabilitationsmaßnahmen dar. Bei einer Psychotherapie sollte möglichst auch das soziale Umfeld des Betroffenen mit einbezogen werden (Familie, Partner, Freunde) (Hasan et al., 2014).

Die Soziotherapie dient der Stärkung sozialer Fähigkeiten des Patienten und soll erkrankungsbedingten sozialen Nachteilen entgegenwirken. Therapiemaßnahmen sind unter anderem die Schaffung eines geregelten Tagesablaufs, frühzeitige Wiedereingliederung in die Arbeitswelt durch Arbeitstherapie und berufliche Frührehabilitation und Hilfestellungen bei der Wohnsituation nach Klinikaufenthalt. Zentrales Ziel ist die Förderung der individuellen Fertigkeiten des Patienten und die Ermöglichung einer weitestgehend selbstständigen Lebensweise (Möller, 2015).

2.2 Epigenetik

2.2.1 Allgemeine Genetik

Die Genetik beschäftigt sich mit der Vererbungslehre von Organismen, d.h. wie bestimmte Merkmale transgenerational weitergegeben werden. Während sich die klassische Genetik hauptsächlich mit den Regeln der Vererbung (z.B. Mendelsche Regeln) und der Genkartierung (Zuordnung bestimmter Gensegmente zu bestimmten Genen) befasst, erforscht die molekulare Genetik die Mechanismen und Strukturen genauer, die an der Regulation der Weitergabe und Expression von Genen beteiligt sind (Weiskirchen, 2013).

Gene sind bestimmte Abschnitte der DNA, in denen spezifische Erbinformationen (Basensequenzen) enthalten sind. Die DNA eines Organismus ist auf verschiedene Chromosomen verteilt. Jeder Organismus besitzt eine spezifische Anzahl an Chromosomen, die aus Chromatin aufgebaut sind. Chromatin setzt sich aus DNA und Proteinen, u.a. den Histonen, zusammen. Bei der Befruchtung einer Eizelle verschmelzen die haploiden Chromosomensätze der Ei- und Spermienzelle miteinander zu einem diploiden Chromosomensatz. Somit wird das Erbgut beider Eltern an die Nachkommen weitergegeben (maternale und paternale Vererbung). Es existieren 22 Autosomenpaare und 2 Heterosomen (XX, XY), sofern keine Mutation stattgefunden hat. Diese Genpaare sind im molekularen Aufbau nicht zwingend identisch und werden als Allele bezeichnet. Durch Transkription und Translation werden im Organismus auf Grundlage der genetischen Information bestimmte Moleküle (RNA, Proteine) im Körper synthetisiert, die wiederum spezifische Funktionen erfüllen. Alle Gene eines Organismus bilden, gemeinsam mit zwischengeschalteten repetitiven Nukleotidsequenzen, das sogenannte Genom. Beim Menschen besteht das Genom aus 30.000 - 40.000 Genen. Die Gesamtheit aller Gene eines Organismus (Genotyp) determiniert dessen äußeres Erscheinungsbild (Phänotyp). Jede Zelle des menschlichen Organismus enthält einen identischen, kompletten Satz an Genen, der die

Grundlage der Differenzierung aller Organe bildet. Die entsprechenden Kontrollmechanismen, die dafür verantwortlich sind, dass in jeder Zelle nur die Gene aktiv sind, die spezifisch für deren Funktion von Bedeutung sind, fallen in den Bereich der Epigenetik (Janning und Knust, 2008).

2.2.2 Definition Epigenetik

Der Begriff „Epigenetik“ bedeutet übersetzt „außerhalb der klassischen Genetik“. Es handelt sich um reversible, vererbte Veränderungen der Genaktivität bestimmter Gene, die auch über Zellteilungen hinweg stabil weitergegeben werden können, ohne zu strukturellen Änderungen der DNA zu führen. Epigenetische Mechanismen spielen unter anderem eine wesentliche Rolle bei der Regulation der Zellaktivität und der Zelldifferenzierung. Sie finden bereits während der embryonalen Entwicklung statt und können im weiteren Lebensverlauf von Umweltfaktoren beeinflusst werden. Diesen Einfluss kann man mittels Zwillingsstudien näher untersuchen: eineiige Zwillinge mit demselben DNA-kodierten Erbgut weisen unterschiedliche epigenetische Muster auf. Die epigenetischen Muster können in unterschiedlicher Weise für bestimmte Erkrankungen prädisponieren.

Es existieren verschiedene, miteinander interagierende epigenetische Mechanismen, die die Genexpression beeinflussen (Jaenisch und Bird, 2003, Portela und Esteller, 2010). In dieser Arbeit soll nur auf die für die Studie relevanten epigenetischen Mechanismen eingegangen werden.

1. DNA-Methylierung und DNA-Hydroxymethylierung

Bei diesem Mechanismus kommt es zu einer Methylierung des Cytosins zu 5-Methyl-Cytosin. Dies spielt hauptsächlich in sogenannten CpG-Inseln eine Rolle, die Einfluss auf die Aktivität eines Gens haben (Knippers, 2006). CpG-Inseln sind DNA-Abschnitte, die einen hohen Anteil an Cytosin und Guanin und eine große Häufung von aus ihnen bestehenden CpG-Dinukleotiden enthalten (Gardiner-Garden und Frommer, 1987). Sie sind bei ca. 40% der Gene von Säugetieren in Promoter- und Exonregionen zu finden (Takai und Jones, 2002). Bei Genen, die exprimiert werden sollen, sind die CpG-Inseln nicht methyliert, während die Methylierung des Cytosins einer CpG-Insel zu einer Blockade der Transkription und somit der Aktivität des Gens führt. Bei der embryonalen Entwicklung werden zunächst sämtliche vererbte Methylierungsmuster väterlicher- und mütterlicherseits demethyliert, danach erfolgt eine de novo Methylierung von über 80% aller CpG-Inseln. Diese Methylierungsmuster werden während der weiteren Entwicklung des Individuums fortlaufend modifiziert.

Ursächlich für die Methylierung der DNA sind DNA-Methyltransferasen (DNMTs). Es existieren verschiedene Formen, die im menschlichen Organismus auf 6 Genen kodiert sind. Die DNMT-1 trägt zur Erhaltung des Methylierungsmusters bei der Replikation bei, indem sie das Muster des Matrizen-DNA-Strangs im neusynthetisierten Strang übernimmt. Die DNMT-3a/3b führt Methylgruppen bei CpG-Inseln ein und bewirkt Neumethylierungen, unabhängig von Methylierungsmustern der

parenteralen DNA. Als Methyl donor dient S-Adenosylmethionin (SAM). Durch Methylierung des Cytosins werden zum einen Transkriptionsfaktoren daran gehindert, an bestimmte DNA-Sequenzen zu binden, wodurch die Transkription und somit die Genaktivität blockiert wird, zum anderen bildet methylierte DNA eine Bindestelle für Proteine mit Methyl-CpG-Binde-Domänen. Letztere wiederum treten in Verbindung mit verschiedenen Proteinen, die Auswirkungen auf die Struktur des Chromatins und somit die Aktivität der Gene haben (Knippers, 2006). Neuere Studien konnten diesen Mechanismus auch für nicht-CpG-Regionen in Geweben von Maus und Mensch nachweisen. In Mausmodellen fanden DNA-Methylierungen zu ca. 75% in CpG-Regionen und zu ca. 25% in CpH-Regionen (H=Adenosin/ Cytosin/ Thymin) statt. CpG- und CpH- Methylierungen scheinen nicht nur die neuronale Entwicklung und Plastizität zu beeinflussen, sondern auch eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen zu spielen (Guo et al., 2014).

Ebenso kommt es zu Hydroxymethylierungen der DNA, wobei in mehreren enzymkatalysierten Schritten ein Wasserstoffmolekül des Cytosins durch eine Hydroxymethylgruppe ersetzt wird. Anders als die DNA-Methylierung führt dieser Mechanismus zu einer gesteigerten Genexpression. In diversen Studien konnte eine hohe Dichte an globaler DNA-Hydroxymethylierung vor allem im Gehirn und peripheren neuronalen Zellen nachgewiesen werden (Fullard et al., 2016). Verantwortlich sind einige Enzyme der Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase (TET-Hydroxylase) - Familie. Diese bewirken eine Oxidierung von 5-Methylcytosin (5-mC) zu 5-Hydroxymethylcytosin (5-hmC). 5-hmC kann über zwei weitere enzymkatalysierte Schritte zu 5-Hydroxymethyluridin umgewandelt werden, welches mittels bestimmter Enzyme durch unmethyliertes Cytosin ersetzt werden kann (Demethylierung der DNA). Einige Studien beschreiben einen engen Zusammenhang von Vertretern der TET-Familie bzw. 5-hmC und der epigenetischen Regulation spezifischer Gewebe (Guidotti et al., 2014). Die Vorgänge der enzymatischen Methylierung und Hydroxymethylierung sind in Abbildung 2.3 dargestellt.

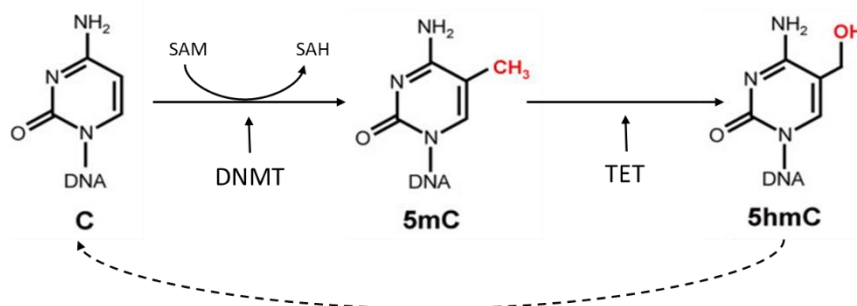


Abbildung 2.3 Enzymatische Umwandlung von Cytosin zu 5-Methylcytosin (5-mC) über die DNMTs und weiter zu 5-Hydroxymethylcytosin (5-hmC) durch die TET-Hydroxylasen (enzymatische Umwandlung in Cytosin über mehrere Zwischenschritte möglich)

Quelle: Eigene Darstellung, in Anlehnung an: Pfeifer et al. (2013)

2. Histon-Modifikationen

Die DNA liegt je nach Zellzyklus in verschiedenen Kondensationsstufen vor (DNA-Doppelhelix, Nukleosomenfilament, Fibrille, Chromatide, Chromosom). Die Regulation des Kondensationsgrades erfolgt unter anderem durch chemische Modifikationen an bestimmten Aminosäuren der Histone. So bewirkt beispielsweise eine Acetylierung von Lysinresten in Histonen eine Auflockerung des Chromatins, da die positive Ladung der Histone neutralisiert und somit die Bindung an die negativ geladene DNA abgeschwächt wird, wodurch die Transkription des entsprechenden DNA-Abschnitts erfolgen kann. Durch Deacetylierung kommt es zu einer Verdichtung der Chromatinstruktur und dadurch zur Abnahme der Aktivität des entsprechenden Gens. Methylierungen von Histon-Resten können in Abhängigkeit der Lokalisation der modifizierten Base sowohl zu einer Aktivierung als auch zu einer Hemmung der Transkription führen (Janning und Knust, 2008).

Es existieren viele weitere posttranskriptionelle Modifikationsmöglichkeiten (siehe Abbildung 2.4) wie beispielsweise die Histonphosphorylierung und -ubiquitinierung. Durch enzymatisch bedingte Modifikationen der Histone werden unter anderem der Kondensationsgrad von Chromosomen, die Genaktivität und bestimmte DNA-Reparatursysteme beeinflusst. Da diese Veränderungen reversibel sind, bedarf es jeweils zweier Enzymgegenspieler je Modifikationsmuster, beispielsweise der Histon-Acetyltransferasen (HATs) und der Histondeacetylasen (HDACs) (Portela and Esteller, 2010). Bei HDACs handelt es sich um eine Gruppe von Enzymen, welche durch posttranslationale Deacetylierung von Histonen die Expression der betroffenen Gene reprimieren können. Es existieren mehrere Subtypen, die wiederum in verschiedene Klassen eingeteilt werden können. Durch Hypoacetylierung kommt es zu einer Verdichtung der Chromatinstruktur und somit zu einer verminderten Transkription des betroffenen Gens. Für die Enzymaktivität der einzelnen HDACs bedarf es verschiedener Cofaktoren (De Ruijter et al., 2003). Die Antagonisten der HDACs stellt die Gruppe der HATs dar. Im Regelfall bewirkt eine Histonacetylierung eine gesteigerte Genexpression (Wang et al., 2009). Die antagonistisch wirkenden Enzyme H3K4-Methylase und -Demethylase stellen eine weitere Möglichkeit der Histonmodifikation dar. Im Gegensatz zur Histonacetylierung wird dies bei diesen Enzymen weniger durch Veränderungen der Chromatinstruktur als vielmehr durch Bindung spezifischer Proteine erreicht, welche wiederum die Transkription beeinflussen. Es existiert eine Vielzahl von Histonmethyltransferasen (HMTs), welche die Übertragung von Methylgruppen auf Lysinreste der Histone katalysieren. Methyl donor ist SAM. Die H3K4-Lysinreste können mono-, di- oder trimethyliert (me1, me2 oder me3) werden. Alle 3 Formen führen zu einer Aktivierung der Genexpression. Die Demethylierung methylierter H3K4-Lysinreste durch H3K4-Demethylasen hat einen antagonistischen Effekt (Gu and Lee, 2013).

In mehreren Studien konnten Interaktionen zwischen den einzelnen epigenetischen Modifikationswegen nachgewiesen werden, beispielsweise können DNMTs direkt die Aktivität der HDACs und HMTs und die HMTs wiederum die Aktivität der DNMTs beeinflussen (Gavin and Sharma, 2010).

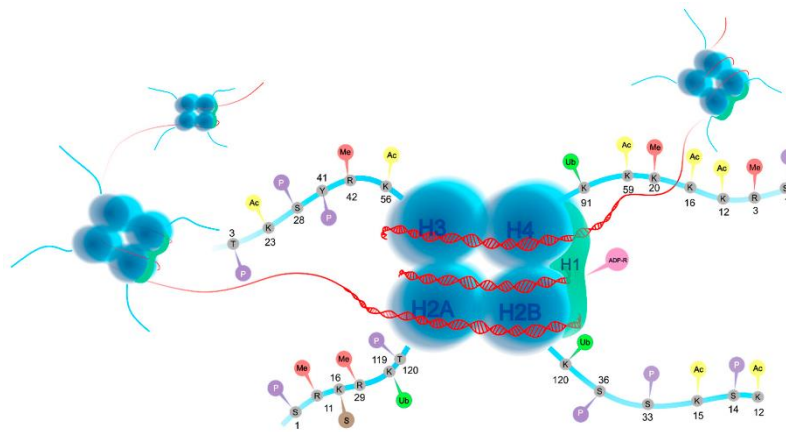


Abbildung 2.4 Histonoktamer (H2A, H2B, H3,H4) mit verschiedenen Histonmodifikationen (Acetylierung, Methylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinierung, ADP-Ribosylierung, SUMOylierung) im Überblick.

Quelle: Samec et al. (2019)

2.2.3 Epigenetische Veränderungen bei schizophrenen Erkrankungen

In zahlreichen Studien konnten Korrelationen zwischen epigenetischen Veränderungen und dem Auftreten bestimmter psychiatrischer Krankheitsbilder aufgezeigt werden. Was Ursache und was Wirkung ist, ist allerdings noch nicht vollständig geklärt.

Das zentrale Nervensystem des Menschen entwickelt sich aus neuronalen Stammzellen, die sich in Neurone und Gliazellen weiterdifferenzieren. Die neuronalen Strukturen sind plastisch, d.h. sie können sich lebenslang neu bilden und strukturell umformen. Diese neuronale Plastizität wird ebenso wie Bereiche des Denkens und Lernens, der Gedächtnisfunktionen und der Aktivität von Neurotransmittern durch DNA-Methylierungen, Histon-Modifikationen, epigenetisch wirksame RNAs und dem Imprinting beeinflusst. Die Epigenetik besitzt somit Einfluss auf die Gedächtnis- und Verhaltensentwicklung und dadurch auch auf die Entstehung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen (Peedicayil, 2011).

2.3.3.1 DNA-Methylierung und DNA-Hydroxymethylierung

In post-mortem Studien konnten ausgeprägte Veränderungen der DNA-Methylierungsmuster in neuronalen Geweben des zentralen Nervensystems (ZNS) während der gesamten Lebenszeit nachgewiesen werden, insbesondere im Vergleich von prä- zu postnatalen Gewebeproben. Während dieser Zeitspanne gab es signifikant erhöhte Anreicherungen methylierter DNA an Genloci, die als Risikogene für die Entwicklung einer Schizophrenie gelten (Jaffe et al., 2016). In peripheren Blutzellen psychotischer Probanden konnte ein Anstieg der TET-1, -2, -3-mRNA um 30-60% gemessen werden (Guidotti et al., 2014; Dong et al., 2015). In Gehirn- und peripheren Blutzellen von schizophrenen

Patienten zeigten sich im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant erhöhte Expressionsniveaus der DNMT1, DNMT3a und TET-1. Es wird vermutet, dass bei psychiatrischen Erkrankungen wie beispielsweise Schizophrenien oder bipolaren Störungen der Mechanismus der DNA-Methylierung / Demethylierung gestört ist. Erhöhte DNMT-1 und DNMT-3a Konzentrationen führen zu einer Methylierung von Cytosin in Promoterregionen der Gene RELN, BDNF (brain derived neurotrophic factor) und des Glukokortikoidrezeptors (GCortR), eine erhöhte TET-1-Expression ist mit einem vermehrten Vorkommen von 5-HCM in Promoterregionen der Glutamat Decarboxylase 67 (GAD67) und des Wachstumsfaktors BDNF assoziiert (Auta et al., 2013). Auch in weiteren Studien zeigte sich im Neocortex schizophrener Patienten eine Hyper- bzw. Hydroxymethylierung in Promoterregionen der Gene GAD1, RELN und BDNF-IX. Eine erhöhte Bindung von DNMT1 und TET-1 resultierte in einer Reduzierung der Expression dieser Gene (Dong et al., 2015). Durch die reduzierte Expression von RELN (kodiert für Reelin, ein Glykoprotein, welches bei der Strukturierung von Neuronen eine Rolle spielt) und GAD1 (kodiert für GAD67, ein Enzym mit katalytischer Funktion bei der Umwandlung von Glutamat zu GABA) wird zum einen die Strukturumbildung des Gehirns gestört, zum anderen weniger inhibitorisches GABA aus exzitatorisch wirksamem Glutamat gebildet. In weiteren Studien konnte ein Zusammenhang zwischen diesem Transmitter-Ungleichgewicht und der synaptischen Freisetzung von Dopamin hergestellt werden, welches eine Rolle bei der Entstehung von Psychosen spielen soll (Peedicayil, 2011). Die Reduzierung der BDNF-Aktivität in neuronalen Zellen schizophrener Patienten wird als Ursache für eine Neurodegeneration (reduzierte Zellanzahl und -volumen, gestörte Zellarchitektur, Veränderung der Neuroplastizität) und eine Störung der dopaminergen, serotonergen und cholinergen Neurotransmittersysteme angenommen (Angelucci et al., 2005). Glukokortikoidrezeptoren spielen durch eine negative Rückkopplung bei hohen (stressinduzierten) Glukokortikoidspiegeln eine wichtige regulative Rolle in der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse. Kommt es zu einer Reduzierung der Glukokortikoidrezeptoren und folglich zu erhöhten Glukokortikoidspiegeln in Stresssituationen, kann dies im Gehirn zu neuronaler Schädigung bis hin zu einem vermehrten neuronalen Zelltod führen (Webster et al., 2002). Es gilt jedoch zu beachten, dass medikamentöse Behandlungen epigenetische Marker beeinflussen können, beispielsweise zeigten Studien bei langfristiger Behandlung mit Clozapin eine erhöhte HDAC2 Expression im frontalen Cortex schizophrener Patienten (Hasan et al., 2013).

2.3.3.2 Histon-Modifikationen

In Nervengewebeproben des Hippocampus (Benes et al., 2007) und des präfrontalen Cortex (Sharma et al., 2008) schizophrener Patienten wurden in post-mortem Studien erhöhte HDAC1-Konzentrationen gefunden. Damit einhergehend war eine signifikant negative Korrelation der GAD67-Expression. Eine erhöhte Deacetylase-Aktivität und die damit verbundene Inaktivierung des Chromatins einiger Gene im präfrontalen Cortex schizophrener Patienten wird als mögliche Ursache der Negativsymptomatik und kognitiver Defizite diskutiert. Umgekehrt könnten auch verminderte äußere, emotionale und kognitive

Reize oder medikamentös bedingte Passivität bei der Inaktivierung des Chromatins eine Rolle spielen (Sharma et al., 2008). Eine weitere Hypothese legt nahe, dass eine erhöhte HDAC1-Expression durch neurotoxische Stimuli ausgelöst werden könnte (Gavin and Sharma, 2010), beispielsweise Hypoxie bedingt. Interessanterweise gilt perinatale Hypoxie als Risikofaktor für die Entwicklung von Schizophrenien (Hasan et al., 2013). In weiblichen post-mortem Gehirngewebeproben konnten zudem reduzierte H3K4-Methylierungsmuster des GAD1-Promoters und damit einhergehend eine verminderte Expression des Gens festgestellt werden (Huang et al., 2007). Sowohl im Parietalcortex als auch in Lymphozyten schizophrener Patienten konnten erhöhte H3K9me2-Niveaus nachgewiesen werden. Dimethylierung von H3K9 durch HMTs führt zu reduzierter Gentranskription (Chase et al., 2013).

2.2.4 Epigenetische Ansatzpunkte in der Psychopharmakotherapie von schizophrenen Erkrankungen

Durch die aktuelle Behandlung schizophrener Patienten mit Typika oder Atypika (siehe Kapitel 2.1.6) wird hauptsächlich die Positivsymptomatik der Erkrankung reduziert, nicht jedoch die Negativsymptomatik oder kognitive Defizite (Weißer et al., 2013; Hasan et al., 2013). Bei der Entwicklung neuer Medikamente stellt der weiterhin unzureichend verstandene pathobiologische Mechanismus und die ihm zugrundeliegende Neurobiologie eine Schwierigkeit dar (Hasan et al., 2013). Eine Augmentation der Behandlung mit HDAC-Inhibitoren könnte dies ändern. In Tiermodellen zeigte beispielsweise Valproat durch Steigerung der BDNF Expression antidepressive Effekte und eine Verminderung der Negativsymptomatik (Weißer et al., 2013). Valproat spielt zum einen in der Behandlung von Epilepsien, zum anderen bei der Therapie psychiatrischer Störungen eine Rolle. Neben den bisher bekannten Wirkmechanismen (Verlängerung der Depolarisation bestimmter Natriumkanäle, Verstärkung der Wirkung von GABA in neuronalen Strukturen, Blockade von T-Typ Calcium-Kanälen in Neuronen des Thalamus) wurde in Studien belegt, dass Valproat zusätzlich HDACs inhibiert und zur Demethylierung bestimmter DNA-Sequenzen führt. In Tierversuchen konnte zudem ein Einfluss auf bestimmte miRNAs mit Wirkung auf die Neurogenese und die Signalwege von Neuronen nachgewiesen werden (Peedicayil, 2011). Eine Behandlung mit Valproat bewirkte auch in peripheren Blutzellen schizophrener Patienten eine signifikant niedrigere Acetylierung von Histon 3 und 4 (Gavin and Sharma, 2010). In klinischen Studien konnte bisher jedoch kein augmentativer Effekt von Valproat gesichert werden. Es stellt sich die Frage, ob therapeutische Dosierungen des Medikaments ausreichend sind, um Histonacetylierungen im Gehirn beeinflussen zu können (Hasan et al., 2013). Andere HDAC-Inhibitoren führten in präklinischen Versuchsreihen zu einer gesteigerten Expression von reelin und GAD67 (Gavin and Sharma, 2010), einer Steigerung der neuronalen Plastizität mit vermehrter Ausbildung neuer Dendriten und Synapsen (Hasan et al., 2013) und zu einer Besserung neurokognitiver Defizite (Weißer et al., 2013). Für den klinischen Einsatz und die Wirksamkeit dieser Medikamente existieren jedoch einige Limitationen, sie müssen zum einen die Blut-Hirn-Schranke überwinden und zum anderen in einer ausreichend hohen Dosierung und über einen ausreichend langen Zeitraum

verabreicht werden. Zudem zeigen HDAC-Inhibitoren ein hohes Nebenwirkungsprofil (Hasan et al., 2013). Für Clozapin, Olanzapin und Quetiapin gibt es erste Hinweise auf eine Aktivierung der DNA-Demethylierung in GABAergen Promoterregionen durch diese Präparate, zudem auf eine direkte Interaktion von Clozapin mit dem GABA-B-Rezeptor. Durch derartige epigenetische Veränderungen im GABAergen System erhofft man sich zukünftige Angriffspunkte des bei Schizophrenien nachgewiesenen Mangels an GABA in kortikalen Neuronen und der damit verbundenen reduzierten Neuroplastizität (Hasan et al., 2013).

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Untersuchungskollektiv

Bei der vorliegenden Studie wurden Unterschiede epigenetischer Marker in peripheren Blutzellen zwischen einem an Schizophrenie erkrankten Patienten- und einem nicht an Schizophrenie erkrankten (gesunden) Kontrollkollektiv untersucht. Hierfür wurden 110 Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München und 90 gesunde Kontrollprobanden verschiedener sozialer Schichten aus dem Krankenhauseinzugsgebiet in die Studie eingeschlossen. Die laborchemische Datenerhebung erfolgte beim Patientenkollektiv zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme (Baseline, V0) und im Verlauf nach 6 Wochen (V3), beim Kontrollkollektiv einmalig bei Studieneinschluss (Baseline, V0). Zudem wurde beim Patientenkollektiv bei stationärer Aufnahme und nach 2 Wochen (V1), 4 Wochen (V2) und 6 Wochen (V3) die Positive and Negative Syndroms Scale (PANSS) erhoben. Die gesunden Kontrollprobanden beantworteten zwei Fragebögen, das Beck-Depressions-Inventar (BDI) zum Ausschluss depressiver Symptome sowie den Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) zur Erfassung von Vernachlässigungs- und Missbrauchserfahrungen, die beide anonym ausgewertet wurden (siehe Kapitel 3.2.2).

Für die Rekrutierung der Probanden wurden folgende Ein- bzw. Ausschlusskriterien angewandt:

Patientenkollektiv:

Es wurden stationär und ambulant geführte Patienten der Klinik ausgewählt, die zwischen 18 und 70 Jahre alt waren und bei denen eine schizophrene Erkrankung nach DSM-IV (295.x, außer 295.4: schizophrenieforme Störung und 295.70: schizoaffektive Störung) vordiagnostiziert war. Da der Zeitpunkt der Datenerhebung dieser Studie vor dem Erscheinungsjahr des DSM-V im Mai 2013 lag, wurden in dieser Arbeit die Diagnosekriterien des DSM-IV angewandt. Ausschlusskriterien waren die Erkrankung an einer anderen DSM-IV Achse-I-Störung, aktueller Substanzabusus und signifikante komorbide somatische Erkrankungen. Es wurden 110 Patienten in die Studie eingeschlossen. Die Daten von 22 Patienten konnten nicht in die Auswertung mit einbezogen werden, da ihre Diagnosen nicht mit den Einschlusskriterien übereinstimmten.

Kontrollkollektiv:

Die Altersbegrenzung des Kontrollkollektivs lag ebenfalls zwischen 18 und 70 Jahren. Ausschlusskriterium stellte eine aktuelle oder vergangene psychiatrische Diagnose nach DSM-IV und eine vordiagnostizierte affektive oder psychotische Erkrankung eines Verwandten 1. Grades dar. Bei der Auswertung des BDI gilt ein Gesamtwert von 15 als behandlungsbedürftige Depression. Von den 90 Probanden lag eine Person über diesem kritischen Wert und wurde daher ausgeschlossen. Bei einer

weiteren Person lagen keine Angaben vor, weshalb sie ebenfalls ausgeschlossen wurde. Im Mittel erreichten alle gesunden Probanden einen Punktwert von $3,88 \pm 3,38$.

Alle Studienteilnehmer wurden ausführlich über die Studie aufgeklärt und unterzeichneten eine von der Ethikkommission der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigte Einverständniserklärung. Es wurde allen Probanden explizit aufgezeigt, dass sie ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an der Studie verweigern oder diese vorzeitig beenden könnten.

3.2 Untersuchungsablauf

3.2.1 Klinisches Interview

Zu Beginn der Untersuchung wurde ein klinisches Interview bei jedem Teilnehmer durchgeführt. Dieses beinhaltete eine Eigen- und Familienanamnese mit Schwerpunkt auf Medikationen und vorbekannten psychiatrischen Erkrankungen.

3.2.2 Psychologische Testverfahren

Für die vorliegende Studie wurden im gesunden Kontrollkollektiv folgende Selbstbeurteilungsfragebögen verwendet: Das Beck-Depressions-Inventar (Beck Depression Inventory, BDI) und der Childhood Trauma Questionnaire (CTQ).

Das BDI zählt zum Goldstandard der Untersuchung des Schweregrades einer Depression. Es handelt sich um einen Selbstbeurteilungsfragebogen mit 21 Fragen (in der ursprünglichen Form, die auch hier verwendet wurde). Jede dieser Fragen besitzt 4 Antwortmöglichkeiten. Der Betroffene wählt die für ihn zutreffende Antwortmöglichkeit (0, 1, 2 oder 3) aus, sollten zwei Aussagen gleichermaßen zutreffen, dürfen beide gewählt werden. Die Fragen beziehen sich auf den Zustand des Patienten innerhalb der letzten Woche. Jede Frage zielt auf eines der im Folgenden aufgelisteten, für eine Depression charakteristischen Symptome und deren derzeitigen Schweregrad ab: Hoffnungslosigkeit, Zufriedenheit, Stimmung, Versagensgefühle, Schuldgefühle, Selbstenttäuschung/-hass, Gefühl der eigenen Bestrafung, Selbstkritik, Selbstverletzungstendenzen, Reizbarkeit, Traurigkeit, soziales Interesse, Selbstwertgefühl, Unentschlossenheit, Antrieb, Schlaf, Müdigkeit, Appetit, unabsichtlicher oder gewollter Gewichtsverlust, Veränderungen der Sexualität, Sorgen in Bezug auf somatische Erkrankungen. Am Ende des Fragebogens wird ein Summenwert gebildet, der zwischen 0 und 63 Punkten liegt (Shaver und Brennan, 2013).

Der CTQ ist eine sehr sensitive Screeningmethode zur retrospektiven Erfassung verschiedenartiger Traumata in Kindheit und Jugend. Die untersuchten Traumata lassen sich in folgende Gruppen (Skalen) einteilen: körperliche, sexuelle bzw. emotionale Missbrauchserfahrungen und körperliche bzw.

emotionale Vernachlässigung. Der Fragebogen besteht aus 28 Items, von denen jeweils 5 jeder der 5 oben aufgeführten Skalen zugeordnet werden können. Zusätzlich beinhaltet der Fragebogen 3 Fragen (Verleugnungs- bzw. Minimierungsskala) zum Aufdecken eventuell bestehender Bagatellisierungs- bzw. Verleugnungstendenzen. Es existieren pro Frage 5 Antwortmöglichkeiten von „Trifft auf mich überhaupt nicht zu“ (1) bis „Trifft auf mich sehr häufig zu“ (5), von denen jeweils eine auszuwählen ist. Für die Auswertung werden die Punktwerte der einzelnen Fragen jeder Gruppe zusammenaddiert und somit ein Summenwert gebildet. Die Summenwerte liefern einen Hinweis auf den Schweregrad der einzelnen Traumatisierungen (standardisierte Klassifikation von keine / leicht bis extrem). Bei einigen Fragen handelt es sich um sogenannte invertierte Fragen (Krischer und Sevecke, 2011).

Die PANSS dient zur Erfassung des Schweregrades von psychotischen Erkrankungen. Es handelt sich um ein Fremdbeurteilungsverfahren mit 30 Items (Symptomen), die für einen Zeitraum von 1 Woche beurteilt werden. Die Items werden 3 Skalen zugeordnet, der Positivskala (z.B. formale Denkstörungen, Wahnideen, Halluzinationen), der Negativskala (z.B. sozialer Rückzug, stereotypes Denken, Affektverflachung) und der Globalskala (z.B. ungewöhnliche Denkinhalte, Aufmerksamkeitsdefizite, Angst). Jedes Symptom wird auf einer 7-stufigen Skala (1 = nicht vorhanden bis 7 = extrem schwer) eingeschätzt, wobei die Kriterien der einzelnen Stufen der Skala klar definiert sind. Für die Auswertung werden die Symptombewertungen für jede der drei Skalen addiert. Der Gesamtwert wird durch Addition der Werte der Positiv- und Negativskalen sowie der Globalskala gebildet und entspricht dem Schweregrad der Erkrankung. Die Skalensummenwerte werden mit T-Normen verglichen (Bunk, 2010).

3.2.3 Blutentnahme

Der Vorgang einer Blutentnahme wird in dieser Arbeit als bekannt vorausgesetzt.

Es wurden jedem Probanden einmalig zu Beginn der Studie insgesamt ca. 40 ml Blut venös abgenommen. Hierbei wurden folgende Röhrchen verwendet: drei EDTA Monovetten (je 7,5ml) sowie ein PAX Gene Röhrchen (7ml), ein Serumröhrchen (5ml) und eine Lithium-Heparin-Plasma Monovette (5ml) für weitere Analysen. Alle wurden probandenspezifisch gekennzeichnet und bis zur Übergabe an das Labor bei Raumtemperatur gelagert. Alle weiteren Schritte erfolgten im Labor, wobei für die Analysen in dieser Studie ausschließlich EDTA-Probenmaterial verwendet wurde (siehe Kapitel 0). Ethylendiamintetraacetat (EDTA) ist ein Antikoagulanzen, welches bevorzugt bei hämatologischen Untersuchungen eingesetzt wird.

3.3 Laborbestimmungen und Testungsverfahren

Sämtliche Labormessungen erfolgten in der Abteilung für Psychiatrische Genetik und Neurochemie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiter: PD Dr. Peter Zill).

3.3.1 DNA-Präparation

Die DNA wurde aus 7,5 ml EDTA-Vollblut mittels des Invisorb Blood Giga-Kits (Invitrogen, Berlin, Deutschland) nach Herstellerangaben extrahiert.

3.3.2 Globale DNA-Methylierung

Bei der vorliegenden Studie wurde zur Quantifizierung der globalen DNA-Methylierung der 5-mC DNA ELISA Kit der Firma Zymo (Irvine, Kalifornien, Vereinigte Staaten) verwendet, nach deren Herstellerangaben vorgegangen wurde. Dieser Kit verwendet monoklonale Anti-5-Methylcytosin-Antikörper, die sensitiv und spezifisch für 5-Methylcytosin sind. Somit kann der prozentuale Anteil von 5-Methylcytosin einer DNA-Probe durch Vergleich mit Referenzproben bestimmt werden. Die DNA des Probenmaterials wurde mittels des MasterPure DNA Purification Kits der Firma Epicentre (Illumina Company, San Diego, Kalifornien, Vereinigte Staaten) nach Herstellerangaben präpariert.

Für die Antikörperreaktion muss die präparierte Proben-DNA als denaturierter Einzelstrang vorliegen, was durch 5-minütiges Erhitzen auf 98°C im Thermocycler erreicht wird. Der Nachweis von 5-Methylcytosin erfolgt durch einen indirekten ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) mittels enzymatischer Lichtabsorptionsmessung. Hierfür werden zur Probe sowohl Anti-5-Methylcytosin-Antikörper (capture antibodies) als auch enzymgekoppelte Zweitantikörper (detection antibodies) hinzugefügt. Die 5-Methylcytosin-Antikörper binden an 5-Methylcytosin, die Zweitantikörper wiederum an gebundene 5-Methylcytosin-Antikörper. Nach Zugabe eines HRP Farmentwicklers wird die Extinktion bei einem Absorptionsmaximum von 405-450nm gemessen (siehe Abbildung 3.1). Im Anschluss werden die Absorptionswerte der entsprechenden Probe mit Negativ- (0% Methylierung) und Positivkontrollen (100% Methylierung) verglichen. Zur Quantifizierung des Prozentanteils von 5-Methylcytosin in der Proben-DNA wird aus Negativ- und Positivkontrollen in verschiedenen Mischverhältnissen eine Standardkurve generiert. Für jedes Mischverhältnis wird die Lichtabsorption gemessen und aus den Werten eine Standardkurve berechnet.

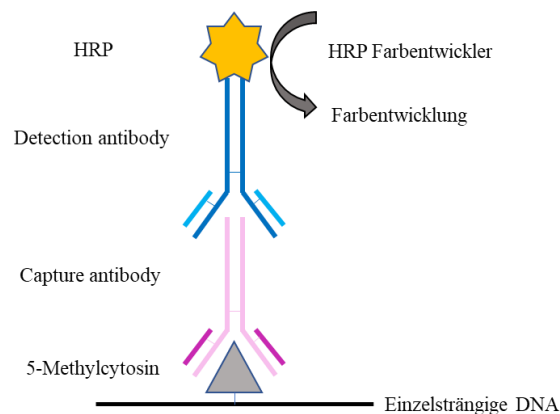


Abbildung 3.1 Indirekter ELISA zur Bestimmung der globalen DNA-Methylierung

Quelle: eigene Darstellung, in Anlehnung an 5-mC DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5325 & D5326, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.3 Globale DNA-Hydroxymethylierung

Zur Quantifizierung der globalen DNA-Hydroxymethylierung wurde der Quest 5hmC DNA ELISA Kit der Firma Zymo (Irvine, Kalifornien, Vereinigte Staaten) verwendet. Die DNA des Probenmaterials wurde mittels des MasterPure DNA Purification Kits der Firma Epicentre (Illumina Company, San Diego, Kalifornien, Vereinigte Staaten) nach Herstellerangaben präpariert. Es wurde nach Herstellerangaben vorgegangen.

Mittels direktem ELISA kann 5-Hydroxymethylcytosin (5-hmC) in einer DNA-Probe nachgewiesen werden. Einzelsträngige Proben-DNA wird zu an einer Versuchsplatte gekoppelten Anti-5-Hydroxymethylcytosin-Antikörpern (anti-5hmC-AK) hinzugegeben. Die Denaturierung der DNA erfolgte mittels Thermocycler (98°C, 5 Min.). Die passenden 5-Hydroxymethylcytosin-Antigene des zu untersuchenden DNA-Strangs binden an die Antikörper. Anschließend werden zunächst Anti-DNA HRP Antikörper und in einem weiteren Schritt ein HRP Farbwirkstoff hinzugefügt. Dieser führt enzymatisch durch Interaktion mit den HRP Antikörpern zur Ausbildung eines grünlich-bläulichen Farbtons der Probe (siehe Abbildung 3.2). Die Extinktionsmessung erfolgt bei einem Absorptionsmaximum von 405-450nm. Die Quantifizierung des Prozentanteils von 5-Hydroxymethylcytosin erfolgt mithilfe einer durch Kontrollen erstellten Standardkurve.

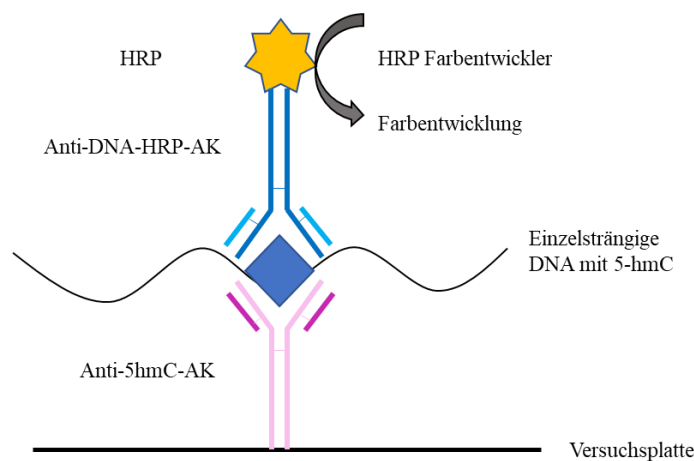


Abbildung 3.2 Direkter ELISA zur Bestimmung der globalen DNA-Hydroxymethylierung

Quelle: Eigene Darstellung, in Anlehnung an Quest 5-hmC™ DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5425 & D5426, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.4 Präparation der Nukleären Extrakte

Die Enzymaktivitäten der H3K4-Methyltransferase- und -Demethylase, der Histonacetyltransferasen (HATs), Histondeacetylasen (HDACs), DNA-Methyltransferasen (DNMTs) und Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1 (TET-1) wurden in den Kernextrakten der PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells – dt.: mononukleäre Zellen des peripheren Blutes) mittels nachfolgend beschriebener kommerziell erhältlicher ELISA-Kits bestimmt. Die PBMCs wurden mittels Dichtegradientenzentrifugation mit Ficoll Paque (VWR, Darmstadt, Deutschland) präpariert und daraus wurde mithilfe des Nuclear Extraction Kits (ab113474) der Firma Abcam (Cambridge, England) nach Herstellerangaben die Kernzellfraktion isoliert.

3.3.5 DNA-Methyltransferasen (DNMTs)

Mittels des DNMT Activity Quantification Kits (ab113468) der Firma Abcam (Cambridge, England) (universeller Kit für alle Isoformen) wurde die Aktivität der DNA-Methyltransferasen bestimmt. Die Durchführungen erfolgte nach Herstellerangaben.

Die zuvor extrahierte DNMT-Lösung wird mit einer Pufferlösung und S-Adenosylmethionin (SAM) inkubiert. Die DNMTs übertragen eine Methylgruppe von SAM auf Cytosin eines DNA-Substrats, wodurch 5-Methylcytosin (5-mC) entsteht, welches mittels Antikörpern (capture antibodies) an Mikrotiterplatten gebunden wird. Im Anschluss werden anti-5-Methylcytosin-Antikörper (detection antibodies) und eine mit ihnen agierende fluoreszenzentwickelnde Lösung zugegeben (siehe Abbildung 3.3). Die quantitative Menge methylierter DNA kann über die Fluoreszenzintensität in einer

Fluoreszenzspektroskopie gemessen werden. Die Enzymaktivität der DNMTs ist direkt proportional zur Quantität der methylierten DNA und somit auch zur gemessenen Fluoreszenzintensität.

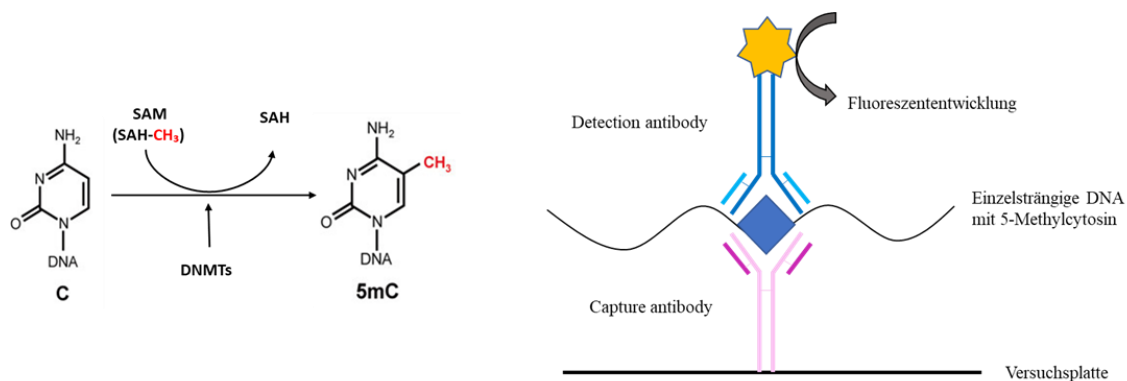


Abbildung 3.3 Enzymatische Umwandlung von Cytosin zu 5-Methylcytosin durch die DNA-Methyltransferasen (links), direkter ELISA zur Bestimmung der DNMT-Enzymaktivität (rechts)

Quelle (links): Eigene Darstellung, in Anlehnung an Pfeifer et al. (2013)

Quelle (rechts): Eigene Darstellung, in Anlehnung an Quest 5-hmC™ DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5425 & D5426, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.6 Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1 (TET-1)

Die Enzymaktivität der TET-1 wurde mittels des ab156913 – TET Hydroxylase Activity Quantification Kits (Fluorometric) der Firma Abcam (Cambridge, England) gemessen. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben.

Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgt mittels eines indirekten ELISA. Hierfür wird ein methyliertes Substrat an eine Mikrotiterplatte gekoppelt und anschließend aktive TET-Hydroxylase hinzugegeben. Nach Umwandlung von 5-Methylcytosin in 5-Hydroxymethylcytosin werden primäre (capture antibodies) und enzymgekoppelte sekundäre Antikörper (detection antibodies) zugefügt. Nach Zugabe eines Fluoreszenz-Farmentwicklers werden die Extinktionswerte bei 530 und 590nm gemessen (siehe Abbildung 3.4). Die Enzymaktivität der TET-1 ist direkt proportional zur Quantität des 5-Hydroxymethylcytosins und somit auch zur gemessenen Fluoreszenzintensität.

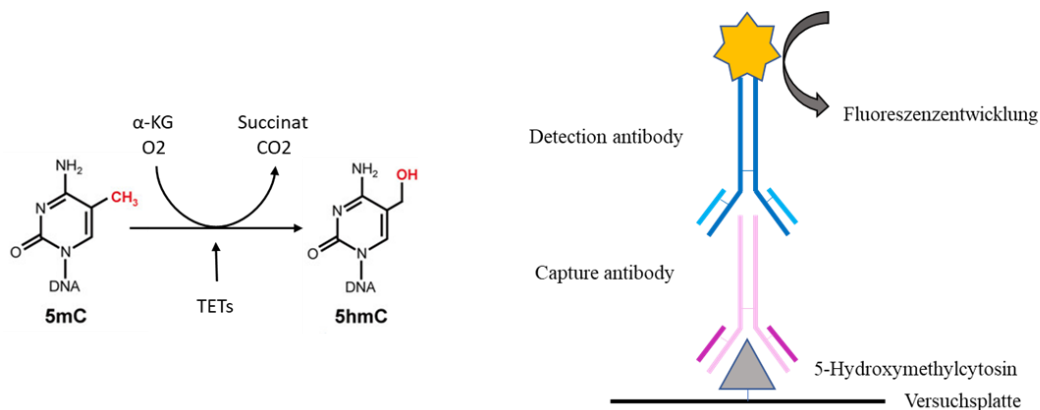


Abbildung 3.4 Enzymatische Umwandlung von 5-Methylcytosin zu 5-Hydroxymethylcytosin durch die TET-Hydroxylasen (links), indirekter ELISA zur Bestimmung der TET-1-Enzymaktivität (rechts); α -KG: α -Ketoglutarat

Quelle (links): Eigene Darstellung, in Anlehnung an Pfeifer et al. (2013) und Ecsedi et al. (2018)

Quelle (rechts): Eigene Darstellung, in Anlehnung an 5-mC DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5325 & D5326, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.7 Histonacetyltransferasen (HATs)

Die Enzymaktivität der Histonacetyltransferasen wurde mittels des ab65352 - Histone Acetyltransferase Activity Assay Kit der Firma Abcam (Cambridge, England) (universeller Kit für alle Isoformen) gemessen. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben.

Nach Aufbereitung der Versuchssprobe wird zur Untersuchungsprobe Acetyl-CoA zugegeben. Dieses dient als Cofaktor für die Acetylierung eines Substrats durch aktive Histonacetyltransferasen. Durch diesen Vorgang wird CoA freigesetzt, welches wiederum als Co-Enzym für die Bildung von NADH fungiert (siehe Abbildung 3.5). Durch Reaktion mit einem flüssigen Tetrazolium-Farbstoff kann NADH spektrophotometrisch in einem Bereich von 440nm nachgewiesen werden.

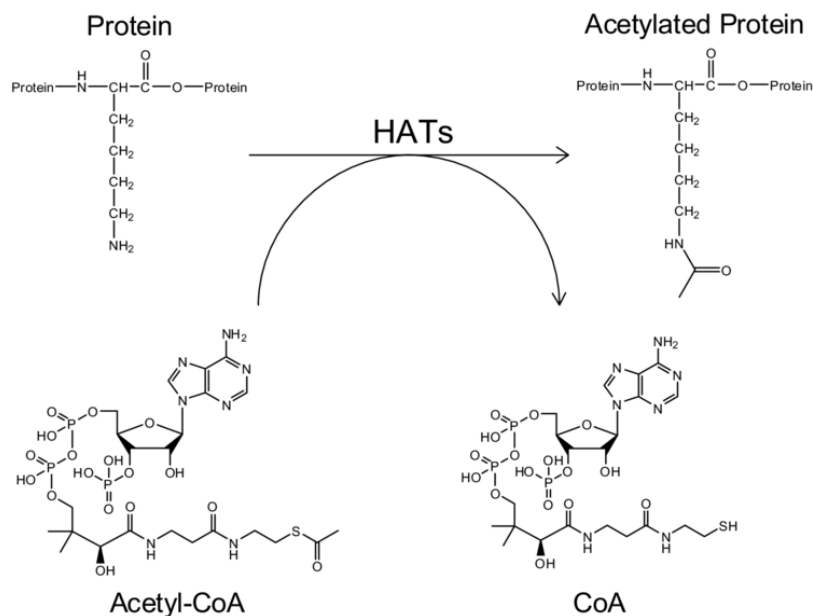


Abbildung 3.5 Acetylierung eines Lysinrestes durch die Histonacetyltransferasen unter Verbrauch von Acetyl-CoA.

Quelle: Rye et al. (2011)

3.3.8 Histondeacetylasen (HDACs)

Die Enzymaktivität der HDACs wurde mittels des ab156064 - Histone Deacetylase (HDAC) Activity Assay Kit (Fluorometric) der Firma Abcam (Cambridge, England) (universeller Kit für alle Isoformen, one-step method) gemessen. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben.

Nach Aufbereitung wird die Versuchssprobe auf zwei Mikrotiterplatten gegeben, wobei eine der beiden Platten einen HDAC-Inhibitor (Trichostatin A) enthält (Inhibitor Kontrollplatte). Die HDACs der Versuchssprobe wandeln acetyliertes Methoxycoumarin-Lysin (Lys(ac)-MCA) in deacetyliertes Methoxycoumarin-Lysin (Lys-MCA) um. Durch ein zuvor auf die Mikrotiterplatten hinzugegebenes Peptidsubstrat wird Lys-MCA mittels der Lysyl Endopeptidase gespalten zu Lysin und S-Aminoethylcystein-Resten (AMC) (vgl. Abbildung 3.6). Die Fluoreszenzintensität von AMC und somit indirekt die HDAC-Aktivität kann mittels Fluoreszenzspektroskopie gemessen werden.

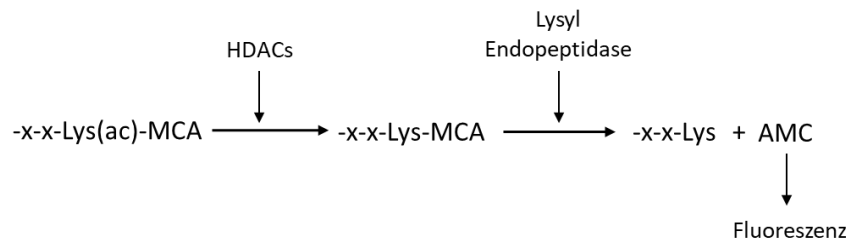


Abbildung 3.6 Umwandlung von Methoxycoumarin-Lysin zu deacetyliertem Lys-MCA und weiter zu S-Aminoethylcystein

Quelle: ab156064 Histone Deacetylase (HDAC) Activity Assay Kit (Fluorometric) von Abcam ®

3.3.9 H3K4-Methyltransferase

Zur Quantifizierung der H3K4-Methyltransferase-Aktivität wurde der ab113452 - EpiSeeker Histone Methyltransferase H3 (K4) Activity Quantification Assay Kit der Firma Abcam (Cambridge, England) verwendet. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben.

Nach Aufbereitung wird die Versuchsprobe auf Platten titriert, auf denen Histonsubstrat fest gebunden ist. Durch die Histonmethyltransferasen der Versuchsprobe wird eine Methylgruppe von S-Adenosylmethionin (SAM) auf den Lysinrest 4 des Histons H3 übertragen. Im Anschluss hinzugegebene spezifische Antikörper (capture antibodies) binden mit hoher Affinität an methyliertes H3K4. Sekundäre HRP-Antikörper (detection antibodies) binden an die primären Antikörper und entwickeln eine Farbreaktion nach Zugabe eines HRP Farmentwicklers (indirekter ELISA), wobei die optische Dichte bei 450nm gemessen wird (siehe Abbildung 3.7). Die H3K4-Methyltransferase-Aktivität ist direkt proportional zur Menge des methylierten H3K4-Substrats.

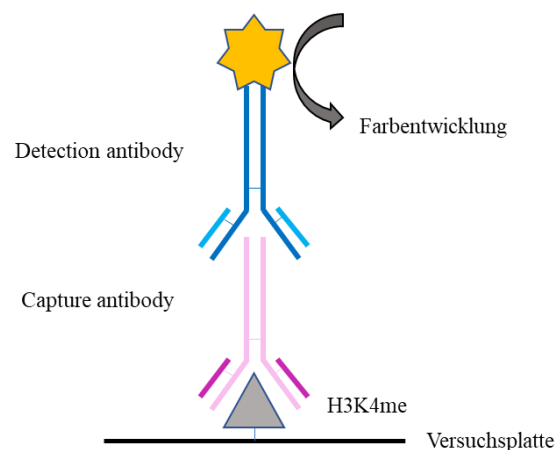


Abbildung 3.7 Indirekter ELISA zur Bestimmung der H3K4-Methyltransferase-Aktivität

Quelle: Eigene Darstellung, in Anlehnung an 5-mC DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5325 & D5326, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.10 H3K4 -Demethylase

Die Enzymaktivität der H3K4-Demethylase wurde mittels des ab113455 – Histone Demethylase (H3K4) Activity Quantification Assay Kits der Firma Abcam (Cambridge, England) gemessen. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben.

Bei diesem Kit wird ebenfalls die Versuchsprobe nach Aufbereitung auf eine Platte mit fixiertem Histonsubstrat titriert, allerdings ist das Histonsubstrat in diesem Fall dimethyliert. Durch die aktive H3K4-Demethylase wird H3K4 demethyliert. Spezifische Antikörper binden an unmethyliertes H3K4 (capture antibodies), an diese Antikörper binden wiederum sekundäre Antikörper (detection antibodies). Durch Zugabe einer spezifischen Lösung kann die Fluoreszenzentwicklung gemessen werden (siehe Abbildung 3.8), welche direkt proportional zur Quantität der unmethylierten H3K4-Histone ist. Die H3K4-Demethylase-Aktivität ist indirekt proportional zur Menge der unmethylierten DNA.

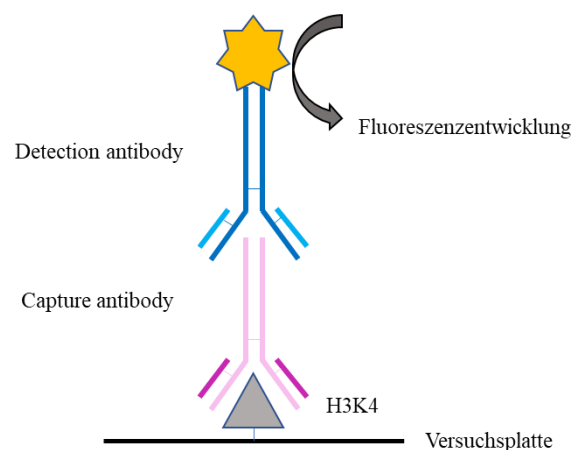


Abbildung 3.8 Indirekter ELISA zur Bestimmung der H3K4-Demethylase-Aktivität

Quelle: Eigene Darstellung, in Anlehnung an 5-mC DNA ELISA Kit, Catalog Nos. D5325 & D5326, ZYMO RESEARCH CORP.

3.3.11 Detektion der optischen Dichte

Die Detektion erfolgte am Polarstar Optima Plate Reader (BMG Labtech, Ortenberg, Deutschland).

3.4 Statistische Methoden

Für die statistische Auswertung der Daten und Erstellung von graphischen Darstellungen der Ergebnisse wurde das Programmsystem SPSS für Windows Version 25 (Chicago, IL, USA) verwendet. Im deskriptiven Teil der Datenanalyse wurden für nominale Variablen die Häufigkeiten und für stetige Variablen zusätzlich Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die Geschlechterverteilung wurde mittels des χ^2 -Tests geprüft, zudem im Anschluss per linearer Regressionsanalyse der Einfluss dieser Variablen auf nachfolgende Berechnungen geprüft. Die Prüfung der Daten auf Normalverteilung erfolgte mithilfe graphischer Darstellungen (Histogramm, Boxplot, Q-Q-Plot). Zum Vergleich der epigenetischen Marker zwischen dem Patienten- und Kontrollkollektiv wurde der T-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Die Veränderungen der Marker innerhalb des Patientenkollektivs im zeitlichen Verlauf (V3 versus V0) wurden mittels des gepaarten T-Tests für verbundene, parametrische Stichproben berechnet und graphisch Streudiagramme erstellt. Die Veränderungen der klinischen Symptomatik innerhalb des Patientenkollektivs (PANSS) wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse mit Messwiederholungen getestet. Im Anschluss erfolgte eine Signifikanzprüfung mittels der Bonferroni Korrektur. Zudem wurden die Korrelationen nach Spearman zwischen den einzelnen epigenetischen Markern und den Punktwerten der einzelnen PANSS-Skalen bestimmt. Im Kontrollkollektiv wurden die Korrelationen nach Spearman zwischen den einzelnen epigenetischen Marker und den Punktwerten der CTQ-Skalen bestimmt. In einer Datenvorverarbeitung wurden in jedem Testverfahren fehlende Werte (missing values) aus dem Berechnungspool entfernt. Für die Auswertung wurde ein Signifikanzniveau von $p < .05$ als statistisch signifikant angesehen.

4 ERGEBNISSE

4.1 Stichprobenbeschreibung

Nach drop outs ergab sich eine Stichprobe von 88 Patienten und 88 gesunden Kontrollpersonen.

Die Probanden beider Gruppen waren zwischen 19 und 70 Jahren alt. Das Durchschnittsalter des Patientenkollektivs betrug 37,4 Jahre (SD 12,9), das des Kontrollkollektivs 36,8 Jahre (SD 14,4). Mittels des T-Tests für unabhängige Stichproben konnte kein signifikanter Unterschied des Durchschnittsalters zwischen beiden Gruppen gefunden werden ($p = .75$).

Innerhalb der Patientengruppe waren 58 Personen männlich (65,9 %) und 30 weiblich (34,1 %), innerhalb der Kontrollgruppe 41 Probanden männlich (46,6 %) und 47 weiblich (53,4 %). Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Unterschied in der Geschlechterverteilung beider Gruppen ($\chi^2 = 6.36$, $p = .01$), mittels linearer Regressionsanalyse konnte allerdings kein signifikanter Einfluss der Geschlechterverteilung auf Unterschiede der epigenetischen Marker gefunden werden, weshalb diese Variable bei Gruppenvergleichen als vernachlässigbar betrachtet wurde. Im Patientenkollektiv überwiegt der Männeranteil mit 65,9 %, im Kontrollkollektiv der Frauenanteil mit 53,4 %. Im Patientenkollektiv ist das Ungleichgewicht zwischen beiden Geschlechtern stärker ausgeprägt. Innerhalb der Patientengruppe waren 2 Probanden aufgrund einer hebephrenen Schizophrenie (DSM IV: 295.10) und 86 aufgrund einer paranoiden Schizophrenie (DSM IV: 295.30) in medizinischer Behandlung.

44 der 88 Patienten (50,0 %) gaben an, bereits vor Studienbeginn medikamentös behandelt worden zu sein, hiervon 31 Probanden mit atypischen Neuroleptika, 5 mit typischen Neuroleptika und 7 mit Medikamenten beider Gruppen. 9 Patienten (10,2 %) erhielten vor Studienbeginn bereits eine Vorbehandlung mit Antidepressiva, 7 (8,0 %) mit Stimmungsstabilisierern und 11 (12,5 %) mit Benzodiazepinen. Die Behandlung der Probanden während des Untersuchungszeitraums erfolgte unter realen Bedingungen und individuell, sie erhielten teilweise keine, Mono- oder Polypharmakotherapie.

Die geplante Studiendauer betrug 6 Wochen, wobei die Teilnehmerzahl im Studienverlauf durch Studienaussteiger deutlich abnahm. Ursachen hierfür stellten eine vorzeitige Beendigung der Behandlung oder individuelle Abbruchwünsche durch die Probanden (z.B. Zeitaufwand, Belastung durch Studie) dar. Somit verblieben zu V3 (nach 6 Wochen) noch 47 Teilnehmer in der Probandengruppe.

Tabelle 4.1 zeigt einen Überblick über wichtige anamnestiche Daten des Probandenkollektivs.

Tabelle 4.1 Übersicht über wichtige anamnestische Daten aller Probanden

		Patienten	SD <i>R</i>	Kontrollen	SD <i>R</i>
N		88		88	
Durchschnittsalter (Jahre)		37,4	12,9	36,8	14,4
			51		51
			%		%
Geschlecht	männlich	57	64,8	41	46,6
	weiblich	30	34,1	47	53,4
	k.a.	1	0,01		
Diagnose (DSM- IV)	295.10	2	2,3		
	295.30	86	97,7		
Erstmanifestation	ja	10	11,4		
	nein	55	62,5		
	k.a.	23	26,1		
Prämedikation	ja	44	50,0		
	nein	25	28,4		
	k.a.	19	21,6		

4.2 Vergleich der epigenetischen Marker zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv

Im Kontrollkollektiv wurden die epigenetischen Marker der DNA-Methylierung, der DNA-Hydroxymethylierung, der DNMT- und der TET-1-Enzymaktivität einmalig bei Studienaufnahme (V0) gemessen, im Patientenkollektiv zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme (V0) und ein zweites Mal nach 6 Wochen (V3). Beim Patientenkollektiv wurden als weitere Parameter die HDAC- und HAT-Enzymaktivitäten und die H3K4-Methylase- und H3K4-Demethylase-Enzymaktivitäten bestimmt. Für die Auswertung wurden zunächst die epigenetischen Laborwerte der Kontroll- und Patientengruppe zum Zeitpunkt V0 und dann der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt V0 und der Patientengruppe zum Zeitpunkt V3 verglichen. Die Grafiken beider Untersuchungsgruppen weisen teilweise Ausreißer auf, die jedoch als korrekte Messwerte betrachtet wurden.

4.2.1 Vergleiche der epigenetischen Marker zwischen Patienten und Kontrollen zum Zeitpunkt V0

4.2.1.1 Globale DNA-Methylierung

Der T-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p < .001$). Beim Patientenkollektiv liegt der Mittelwert bei 15,67 %, während er beim Kontrollkollektiv einen Wert von 5,61 % aufweist (siehe Tabelle 4.2).

In Abbildung 4.1 sind die Häufigkeitsverteilungen der globalen DNA-Methylierung innerhalb der Patienten- bzw. Kontrollgruppe und die Unterschiede zwischen beiden Kollektiven graphisch dargestellt. Es zeigt sich für beide Gruppen eine Normalverteilung.

Tabelle 4.2 Globale DNA-Methylierung (%) zum Zeitpunkt V0

	N	M	SD	p
Patienten	55	15,47	7,05	< .001
Kontrollen	87	5,70	4,04	

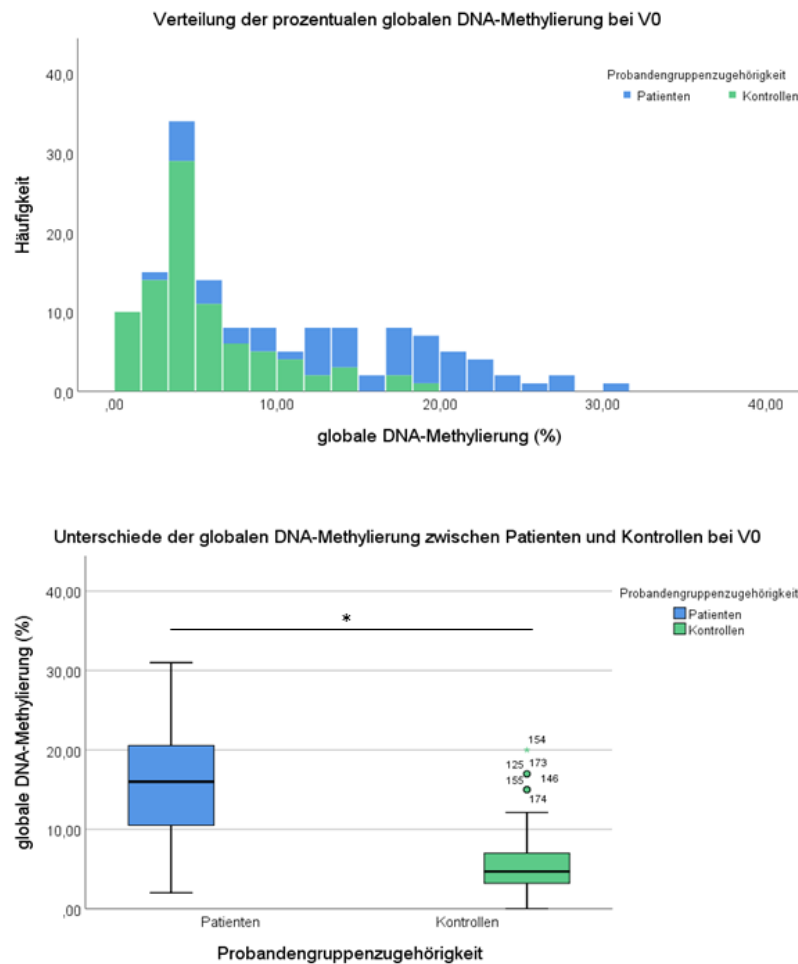


Abbildung 4.1 Gruppenvergleich der globalen DNA-Methylierung zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Oben: Häufigkeitsverteilung der prozentualen globalen DNA-Methylierung im Patienten- und Kontrollkollektiv

Unten: Unterschiede der prozentualen globalen DNA-Methylierung zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv, *: $p < .001$)

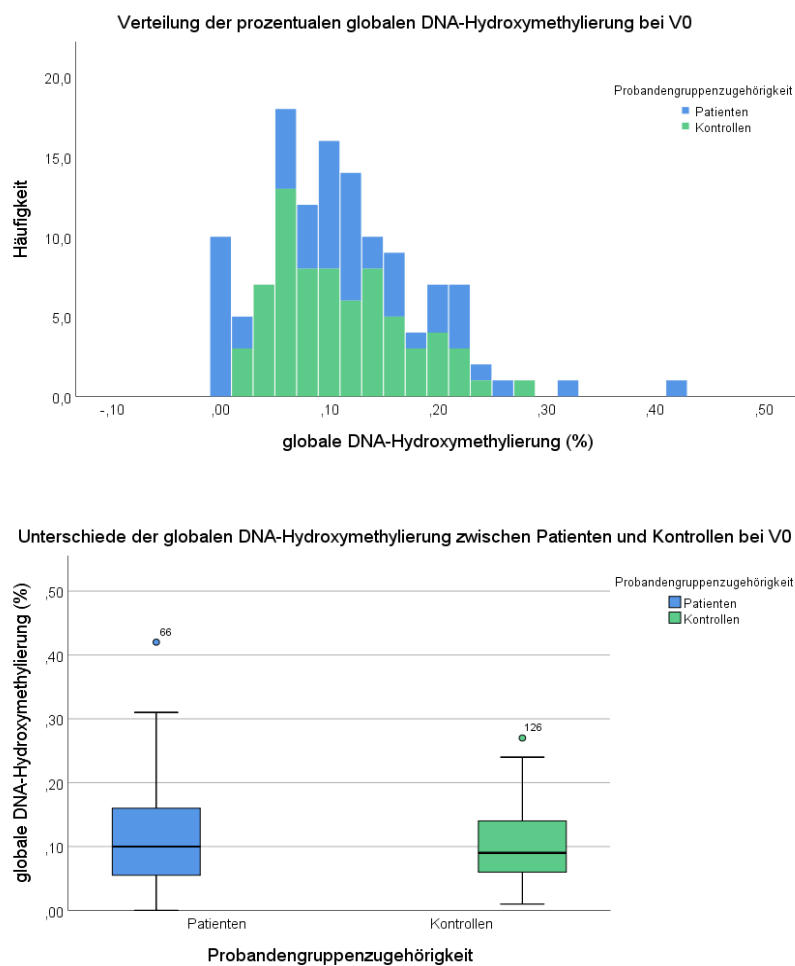
4.2.1.2 Globale DNA-Hydroxymethylierung

Der T-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p = .49$). Bei beiden Gruppen liegt der Mittelwert bei 0,11 % (siehe Tabelle 4.3).

Die Häufigkeitsverteilungen der globalen DNA-Hydroxymethylierung zum Zeitpunkt V0 innerhalb der Patienten- bzw. Kontrollgruppe und die Unterschiede zwischen beiden Kollektiven sind in Abbildung 4.2 dargestellt. Es zeigt sich für beide Gruppen eine Normalverteilung.

Tabelle 4.3 Globale DNA-Hydroxymethylierung (%) zum Zeitpunkt V0

	N	M	SD	p
Patienten	55	0,11	0,09	.49
Kontrollen	70	0,11	0,06	

**Abbildung 4.2** Gruppenvergleich der globalen DNA-Hydroxymethylierung zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Oben: Häufigkeitsverteilung der prozentualen globalen DNA-Hydroxymethylierung im Patienten- und Kontrollkollektiv

Unten: Unterschiede der prozentualen globalen DNA-Hydroxymethylierung zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv

4.2.1.3 DNMT-Enzymaktivität

Der T-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p = .06$). Beim Patientenkollektiv liegt der Mittelwert bei 455,34 RFU/h/mg, während er beim Kontrollkollektiv einen Wert von 321,06 RFU/h/mg aufweist (siehe Tabelle 4.4).

In Abbildung 4.3 sind die Häufigkeitsverteilungen der DNMT-Enzymaktivität innerhalb der Patienten- bzw. Kontrollgruppe und die Unterschiede zwischen beiden Kollektiven graphisch dargestellt. Es zeigt sich für beide Gruppen eine Normalverteilung.

Tabelle 4.4 DNMT-Enzymaktivität (RFU/h/mg) zum Zeitpunkt V0

	N	M	SD	p
Patienten	44	455,34	406,51	.06
Kontrollen	87	321,06	263,70	

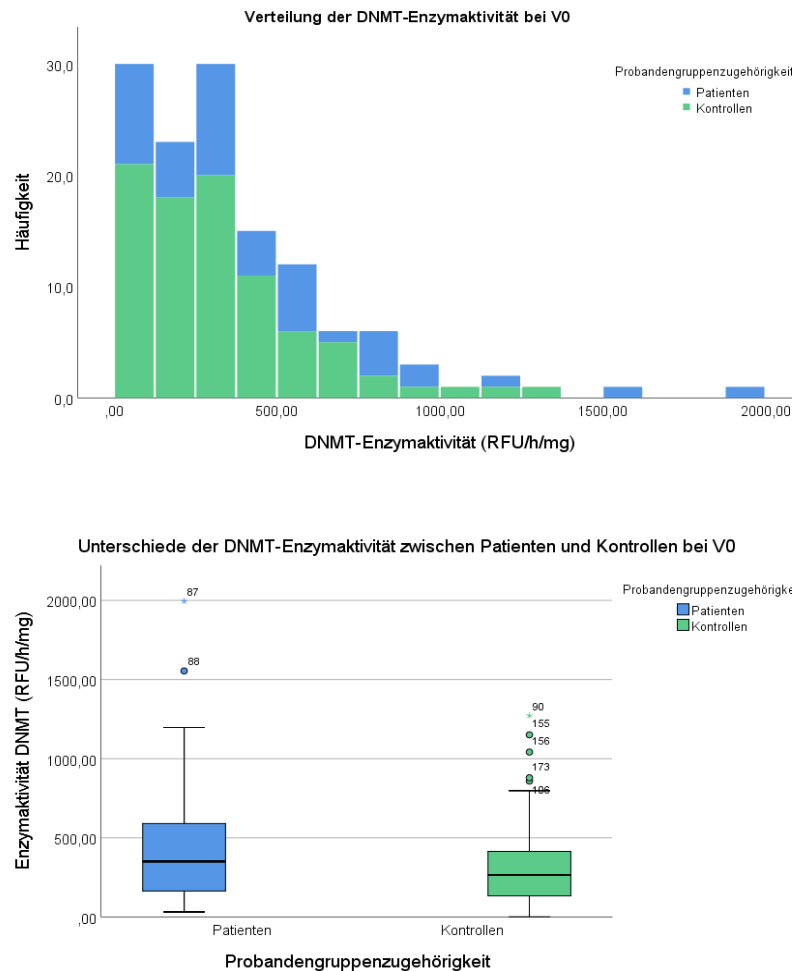


Abbildung 4.3 Gruppenvergleich der DNMT-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Oben: Häufigkeitsverteilung der DNMT-Enzymaktivität (RFU/h/mg) im Patienten- und Kontrollkollektiv

Unten: Unterschiede der DNMT-Enzymaktivität (RFU/h/mg) zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv

4.2.1.4 TET-1-Enzymaktivität

Der T-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p = .00$). Beim Patientenkollektiv liegt der Mittelwert bei 0,29 ng/min/mg, während er beim Kontrollkollektiv einen Wert von 0,17 ng/min/mg aufweist (siehe Tabelle 4.5). Innerhalb des Patientenkollektivs zeigte sich bei der TET-1-Enzymaktivität als einzigem epigenetischen Parameter zum Zeitpunkt V0 (Baseline) ein signifikanter Unterschied zwischen Probanden, die bereits vor Studieneinschluss eine Medikation erhielten und solchen, die nicht prämediziert wurden ($p = .03$). Die prämedizierten Patienten ($N = 22$) zeigten einen Mittelwert von 0,27 ng/min/mg mit einer SD von 0,11 ng/min/mg, die nicht vorbehandelten Patienten ($N = 7$) einen Mittelwert von 0,16 ng/min/mg mit einer SD von 0,09 ng/min/mg.

Die Häufigkeitsverteilungen der TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 innerhalb der Patienten- bzw. Kontrollgruppe und die Unterschiede zwischen beiden Kollektiven sind in Abbildung 4.4 dargestellt. Es zeigt sich für beide Gruppen eine Normalverteilung.

Tabelle 4.5 Enzymaktivität der TET-1 (ng/min/mg) zum Zeitpunkt V0

	N	M	SD	p
Patienten	37	0,29	0,20	.00
Kontrollen	87	0,17	0,11	

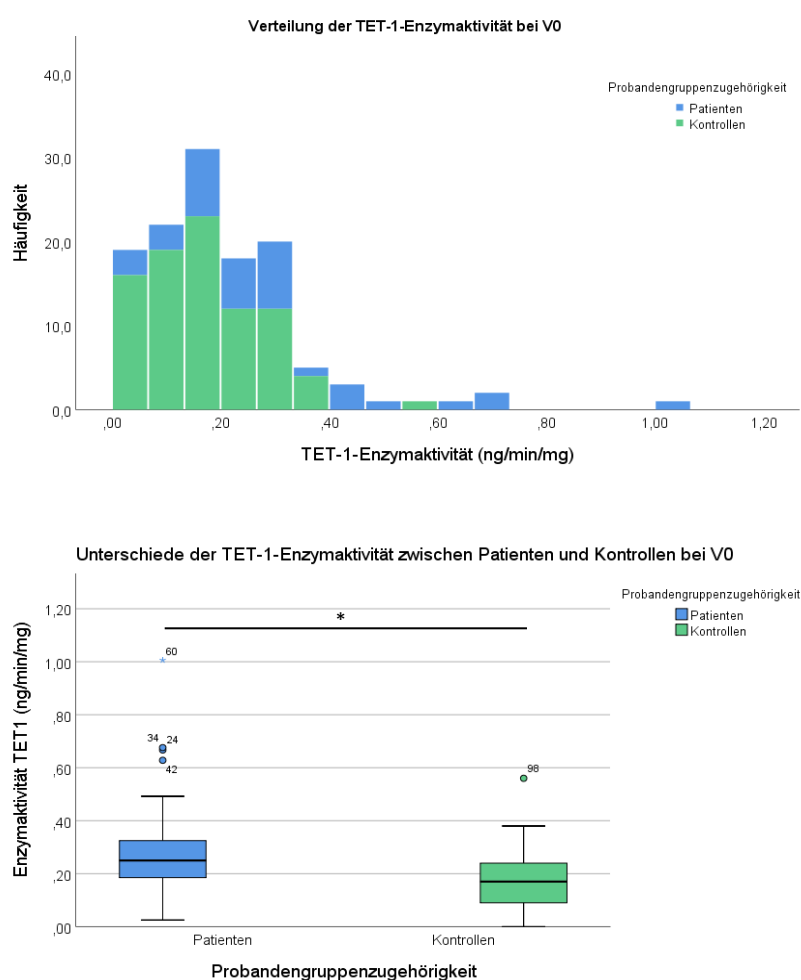


Abbildung 4.4 Gruppenvergleich der TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Oben: Häufigkeitsverteilung der TET-1-Enzymaktivität (ng/min/mg) im Patienten- und Kontrollkollektiv

Unten: Unterschiede der TET-1-Enzymaktivität (ng/min/mg) zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv,

*: $p = .00$)

4.2.2 Vergleiche der epigenetischen Marker zwischen Kontrollen (V0) und Patienten (V3)

4.2.2.1 Globale DNA-Methylierung

Bei einem Vergleich der prozentualen globalen DNA-Methylierung des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt V3 und des Kontrollkollektivs zum Zeitpunkt V0 ergaben sich wie auch in dem vorangegangenen Vergleich der Baselinewerte beider Gruppen (siehe Kapitel 4.2.1) signifikante Unterschiede ($p = .00$). Dies ist graphisch in Abbildung 4.5 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind Tabelle 4.6 zu entnehmen.

Tabelle 4.6 Globale DNA-Methylierung (%) zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten)

	N	M	SD	p
Patienten	18	19,00	10,39	.00
Kontrollen	87	5,70	4,04	

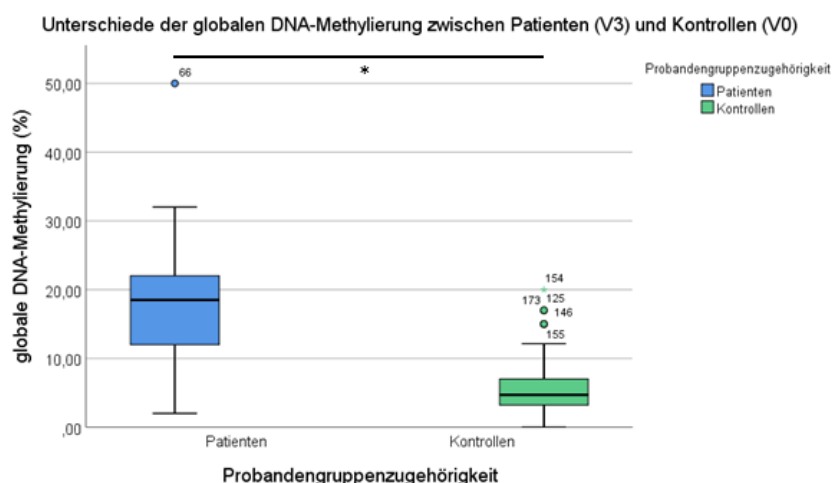


Abbildung 4.5 Unterschiede der globalen DNA-Methylierung zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0), *: $p = .00$

4.2.2.2 Globale DNA-Hydroxymethylierung

Die prozentuale globale DNA-Hydroxymethylierung der Patientengruppe zum Zeitpunkt V3 unterschied sich nicht signifikant von derjenigen der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt V0 ($p = .56$). Dies zeigt auch die graphische Darstellung in Abbildung 4.6. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind Tabelle 4.7 zu entnehmen.

Tabelle 4.7 Globale DNA-Hydroxymethylierung (%) zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten)

	N	M	SD	p
Patienten	18	0,12	0,06	.56
Kontrollen	70	0,11	0,06	

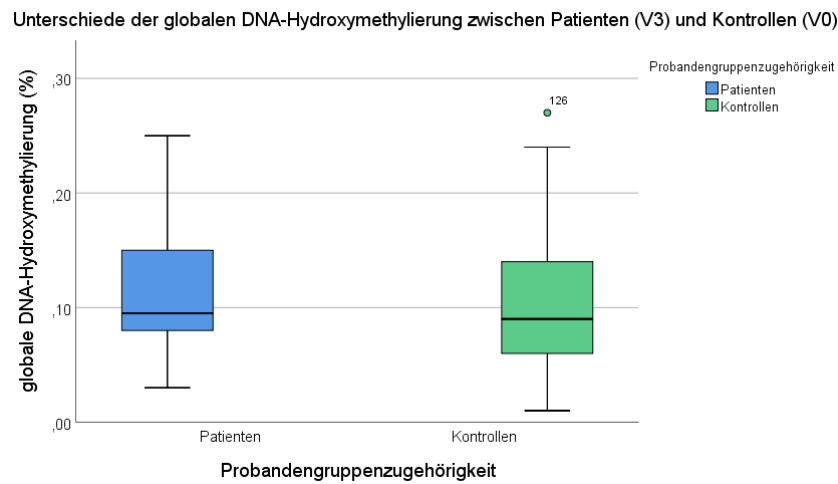


Abbildung 4.6 Unterschiede der globalen DNA-Hydroxymethylierung zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0)

4.2.2.3 DNMT-Enzymaktivität

Die DNMT-Enzymaktivität der Patientengruppe zum Zeitpunkt V3 unterschied sich nicht signifikant von derjenigen der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt V0 ($p = .05$). Dies zeigt auch Tabelle 4.8 und die graphische Darstellung in Abbildung 4.7.

Tabelle 4.8 DNMT-Enzymaktivität (RFU/h/mg) zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten)

	N	M	SD	p
Patienten	31	465,19	364,60	.05
Kontrollen	87	321,06	263,70	

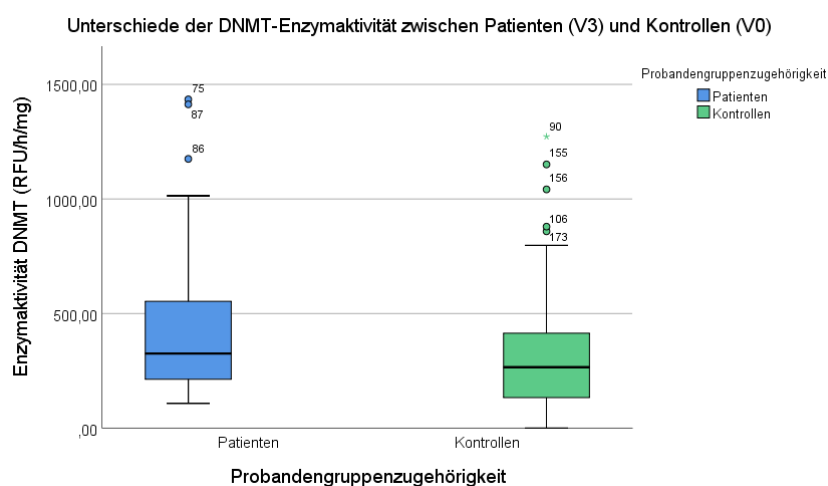


Abbildung 4.7 Unterschiede der DNMT-Enzymaktivität zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0)

4.2.2.4 TET-1-Enzymaktivität

Bei einem Vergleich der TET-1-Enzymaktivität des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt V3 und des Kontrollkollektivs zum Zeitpunkt V0 ergaben sich wie auch in dem vorangegangenen Vergleich der Baselinewerte (siehe Kapitel 4.2.1) signifikante Unterschiede ($p = .03$). Dies ist graphisch in Abbildung 4.8 dargestellt, die Mittelwerte und Standardabweichungen sind Tabelle 4.9 zu entnehmen.

Tabelle 4.9 Enzymaktivität der TET-1 (ng/min/mg) zum Zeitpunkt V0 (Kontrollen) und V3 (Patienten)

	N	M	SD	p
Patienten	26	0,23	0,14	.03
Kontrollen	87	0,17	0,11	

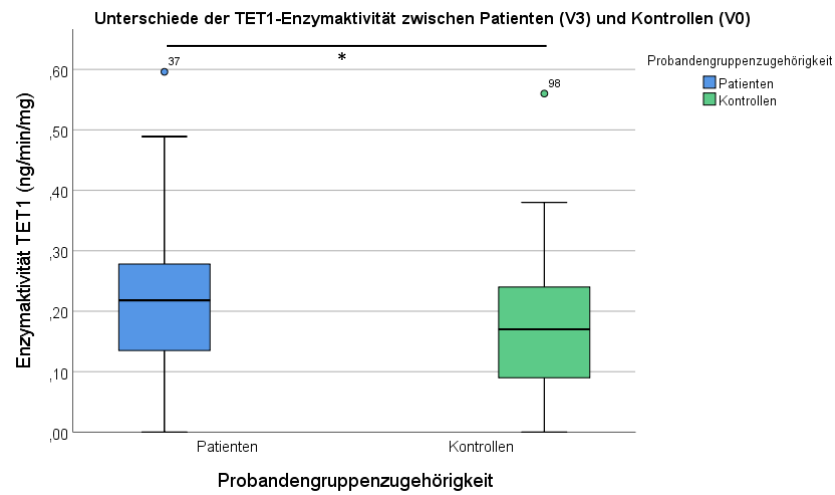


Abbildung 4.8 Unterschiede der TET-1-Enzymaktivität zwischen Patienten (V3) und Kontrollen (V0),

*: $p = .03$

4.3 Vergleich der epigenetischen Marker innerhalb des Patientenkollektivs bei Studienbeginn (V0) und nach 6 Wochen (V3)

Die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen sind in Tabelle 4.10 und in Abbildung 4.17 dargestellt.

4.3.1 Globale DNA-Methylierung

Bei den nach drop outs verbliebenen 18 Teilnehmern der Patientengruppe, bei denen nach 6 Wochen (V3) nochmals der Wert der globalen DNA-Methylierung gemessen wurde, zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Verlauf ($p = .07$). Es ergaben sich 4 negative (mittlerer Rang 9,50) und 13 positive (mittlerer Rang 8,85) Differenzen, d.h. bei 4 der 18 Teilnehmer sank der prozentuale Anteil der globalen DNA-Methylierung, bei 13 Teilnehmern stieg er an, bei einem Teilnehmer blieb er unverändert. Innerhalb des Patientenkollektivs zeigten sich darüber hinaus auch keine signifikanten geschlechtsabhängigen Unterschiede, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .21$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .86$) (vgl. Abbildung 4.9).

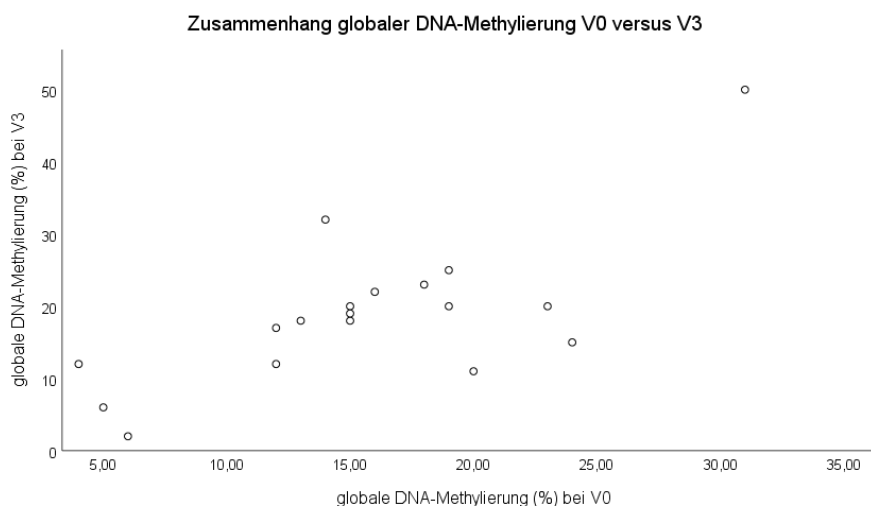


Abbildung 4.9 Zusammenhang der globalen DNA-Methylierung im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.2 Globale DNA-Hydroxymethylierung

Auch ein Vergleich der Werte der globalen DNA-Hydroxymethylierung zu den Untersuchungszeitpunkten V0 und V3 bei den nach drop outs verbliebenen 18 Probanden wies keinen signifikanten Unterschied auf ($p = .20$). Bei 10 Probanden sank der prozentuale Anteil der globalen Hydroxymethylierung (mittlerer Rang 10,35), 8 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 8,44). Anders als in einer Studie von Jiang et al. (2017), die geschlechtsspezifische Unterschiede der globalen DNA-Hydroxymethylierung bei schizophrenen Patienten aufzeigte, konnten in der

vorliegenden Untersuchung keine Mittelwertsunterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Patienten nachgewiesen werden, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .79$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .99$) (vgl. Abbildung 4.10).

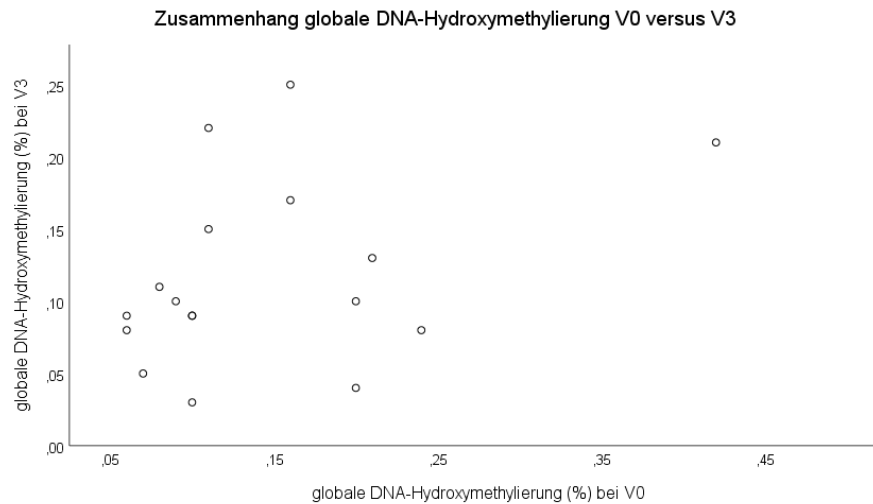


Abbildung 4.10 Zusammenhang der globalen DNA-Hydroxymethylierung im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.3 DNMT-Enzymaktivität

Die DNMT-Enzymaktivität bei den nach drop outs verbliebenen 31 Probanden zeigte keine signifikante Veränderung während des Untersuchungszeitraumes V0 bis V3 ($p = .18$). Bei 10 Probanden nahm die Aktivität der DNMT ab (mittlerer Rang 16,30), 21 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 15,86). Weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .96$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .81$) konnten Mittelwertsunterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten gemessen werden (vgl. Abbildung 4.11).

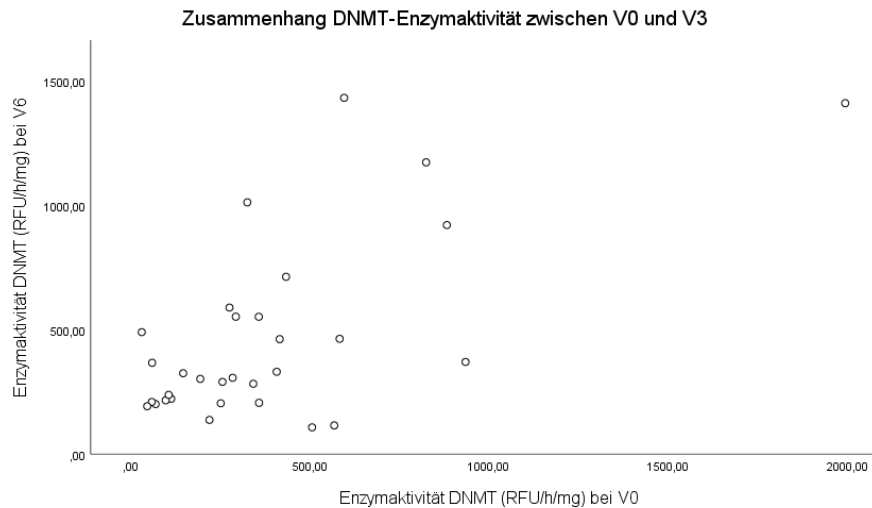


Abbildung 4.11 Zusammenhang der DNMT-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.4 TET-1-Enzymaktivität

Es zeigte sich zwischen den Messzeitpunkten V0 und V3 kein signifikanter Unterschied der TET-1-Enzymaktivität bei den nach drop outs verbliebenen 26 Probanden ($p = .25$). Bei 13 Probanden nahm die Enzymaktivität der TET-1 ab (mittlerer Rang 15,46), 13 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 11,54). Innerhalb des Patientenkollektivs zeigten sich keine signifikanten geschlechterabhängigen Unterschiede, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .44$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .24$) (vgl. Abbildung 4.12).

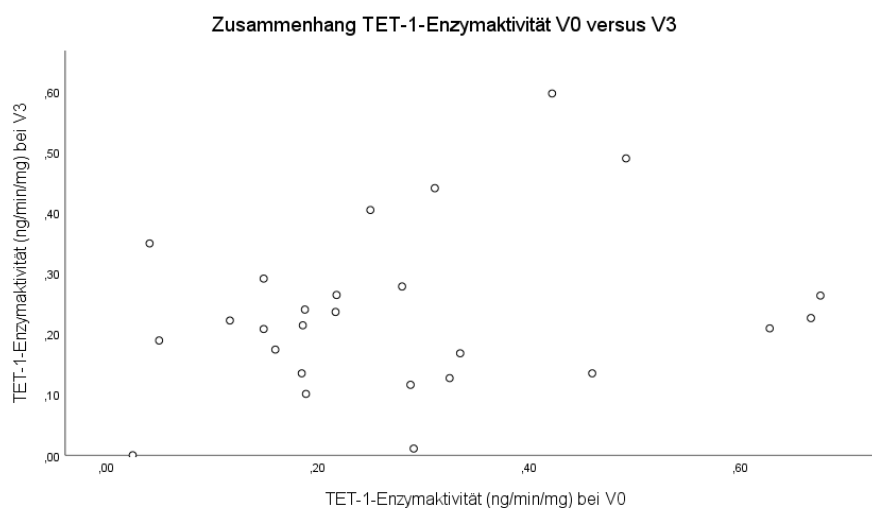


Abbildung 4.12 Zusammenhang der TET-1-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.5 HAT-Enzymaktivität

Die HAT-Enzymaktivität der nach drop outs verbliebenen 31 Probanden zeigte während des Untersuchungszeitraumes keinen signifikanten Unterschied ($p = .10$). Es ergaben sich 17 negative (mittlerer Rang 18,53) und 14 positive (mittlerer Rang 12,93) Differenzen. Innerhalb des Patientenkollektivs zeigte sich kein signifikanter geschlechterabhängiger Unterschied, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .81$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .71$) (vgl. Abbildung 4.13).

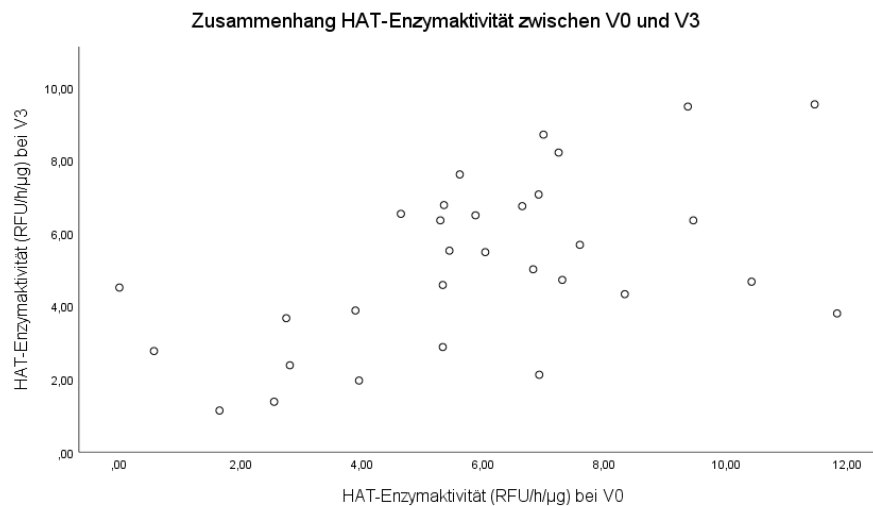


Abbildung 4.13 Zusammenhang der HAT-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.6 HDAC-Enzymaktivität

Für die Veränderung der HDAC-Enzymaktivität bei den nach drop outs verbliebenen 31 Probanden ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = .54$). Bei 17 Probanden nahm die Aktivität der HDAC ab (mittlerer Rang 17,06), 14 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 14,71). Innerhalb der Patientengruppe zeigte sich ein signifikanter Unterschied der HDAC-Enzymaktivität zwischen beiden Geschlechtern zum Zeitpunkt V0 ($p = .02$), die weiblichen Patienten ($N = 19$) lagen mit einem MW von 390,05 RFU/h/μg signifikant niedriger als die männlichen Patienten ($N = 25$) mit einem MW von 684,24 RFU/h/μg. Zum Zeitpunkt V3 bestand kein geschlechtsabhängiger Unterschied ($p = .42$), die weiblichen Patienten ($N = 13$) wiesen einen MW von 389,92 RFU/h/μg, die Männer ($N = 18$) einen MW von 292,25 RFU/h/μg auf. Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung konnte jedoch auch innerhalb der Geschlechtergruppen kein signifikanter Unterschied der HDAC-Enzymaktivität im Behandlungsverlauf festgestellt werden (Männer: $p = .28$, Frauen: $p = .51$) (vgl. Abbildung 4.14).

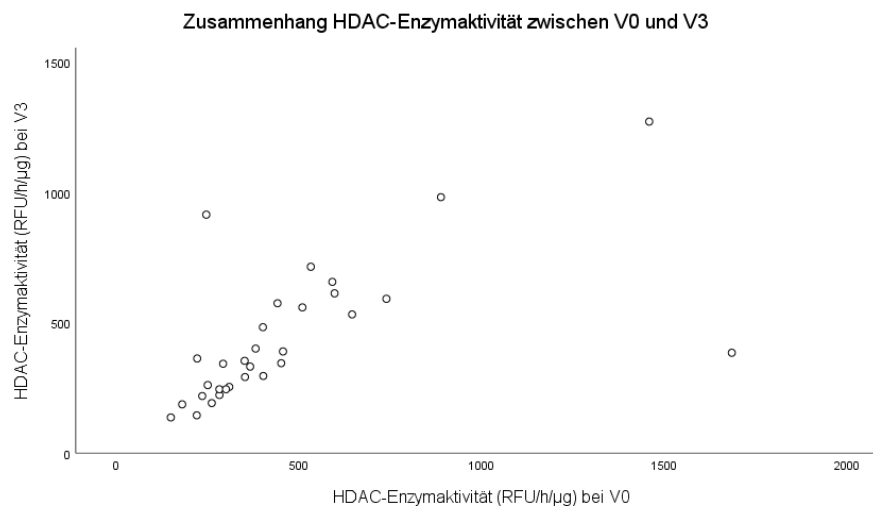


Abbildung 4.14 Zusammenhang der HDAC-Enzymaktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.7 H3K4-Methylase-Aktivität

Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der H3K4-Methylase-Enzymaktivität bei den nach drop outs verbliebenen 27 Patienten ($p = .12$). Bei 15 Probanden nahm die Aktivität der H3K4-Methylase ab (mittlerer Rang 15,77), 11 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 10,41), bei 1 Probanden blieb die Aktivität gleich. Innerhalb der Patientengruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .89$) noch nach 6 Wochen Behandlung ($p = .38$) (vgl. Abbildung 4.15).

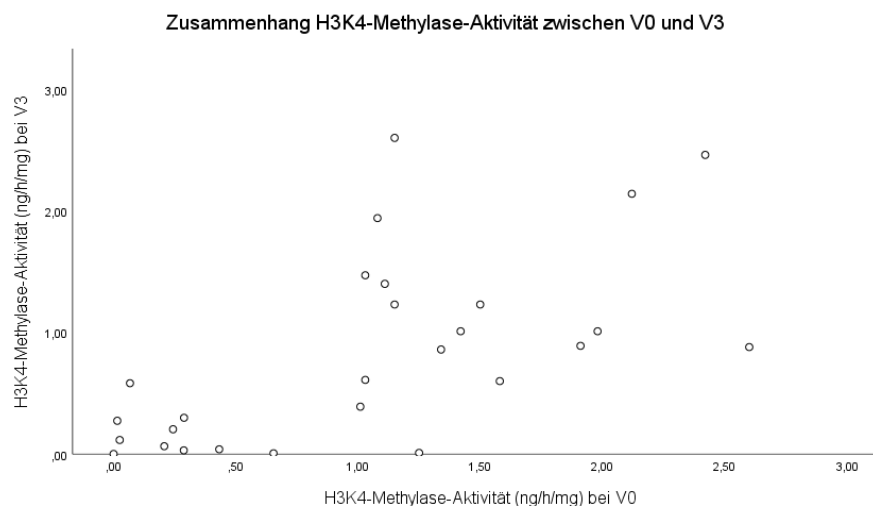


Abbildung 4.15 Zusammenhang der H3K4-Methylase-Aktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.3.8 H3K4-Demethylase-Aktivität

Die H3K4-Demethylase-Enzymaktivität der nach drop outs verbliebenen 27 Probanden unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Messzeitpunkten ($p = .58$). Bei 13 Probanden nahm die Aktivität der H3K4-Demethylase ab (mittlerer Rang 16,46), die restlichen 14 Probanden zeigten eine gegenläufige Tendenz (mittlerer Rang 11,71). Innerhalb der Patientengruppe zeigten sich keine geschlechterabhängigen signifikanten Unterschiede, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .29$) noch nach 6 Wochen Behandlung ($p = .38$) (vgl. Abbildung 4.16).

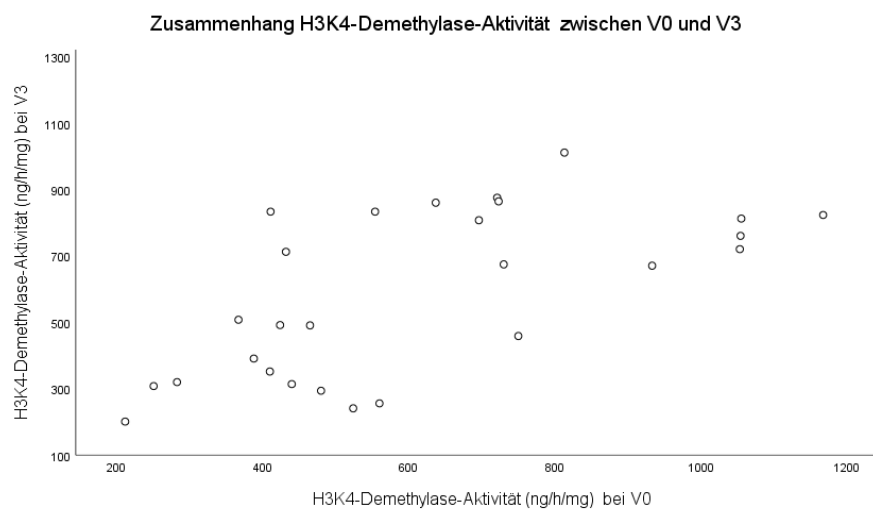


Abbildung 4.16 Zusammenhang der H3K4-Demethylase-Aktivität im Patientenkollektiv zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

Tabelle 4.10 Übersicht der 6-wöchigen Verlaufsuntersuchungen der epigenetischen Marker innerhalb der Patientengruppe

		N	M	SD	p
Globale Methylierung (%)	V0	18	15,61	6,80	.07
	V3		19,00	10,39	
Globale Hydroxymethylierung (%)	V0	18	0,14	0,09	.20
	V3		0,12	0,06	
TET-1 (ng/min/mg)	V0	26	0,28	0,18	.25
	V3		0,23	0,14	
DNMT (RFU/h/mg)	V0	31	388,68	385,03	.18
	V3		465,19	364,60	
HDAC (RFU/h/μg)	V0	31	466,81	340,95	.54
	V3		435,61	262,40	
HAT (RFU/h/μg)	V0	31	5,95	2,89	.10
	V3		5,17	2,29	
H3K4-Demethylase (ng/h/mg)	V0	27	612,33	266,21	.58
	V3		588,70	247,74	
H3K4-Methylase (ng/h/mg)	V0	27	1,03	0,76	.12
	V3		0,83	0,77	

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen der epigenetischen Marker innerhalb des Patientenkollektivs von Studienbeginn und nach 6 Wochen graphisch dargestellt (vgl. Abbildung 4.17).

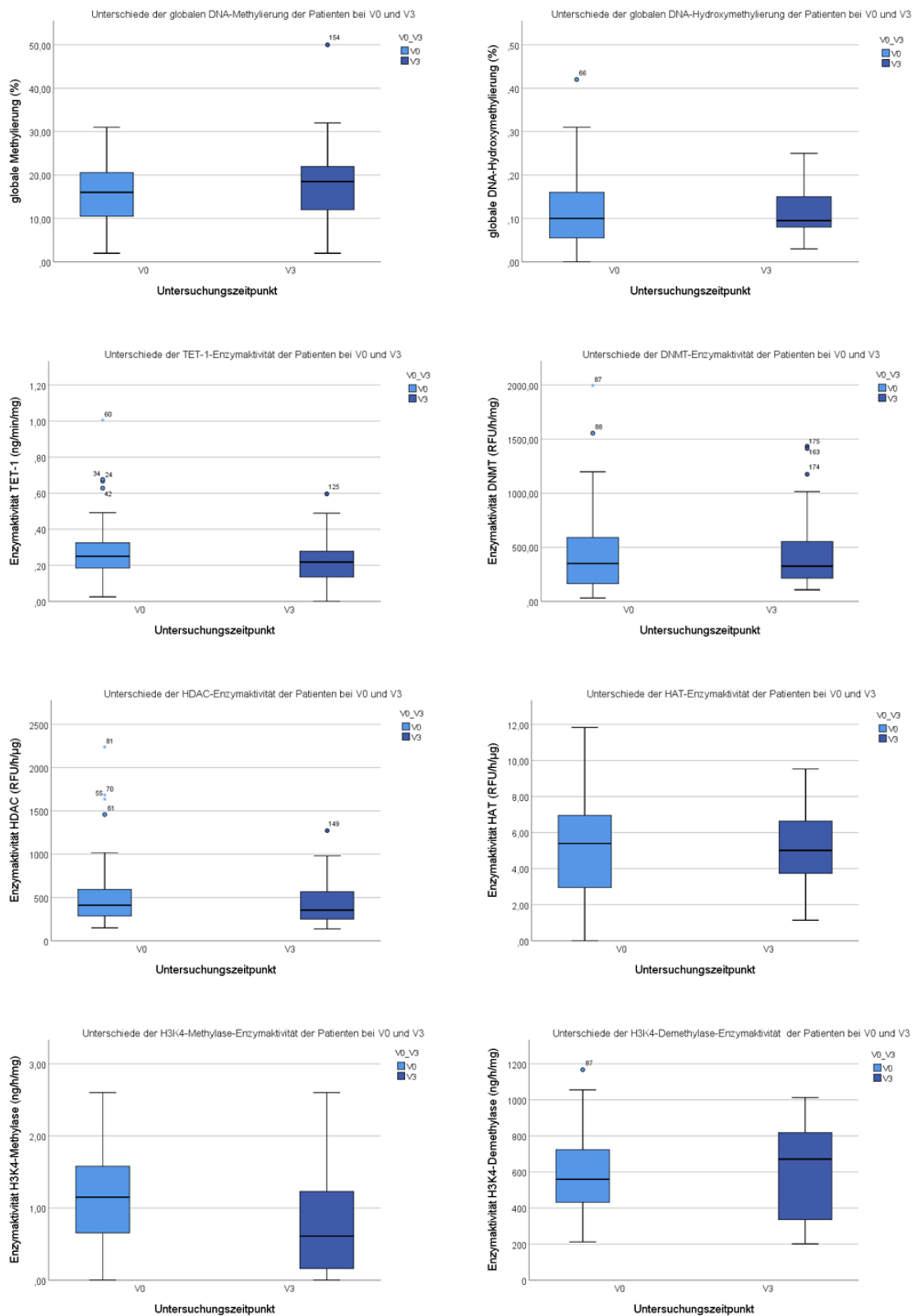


Abbildung 4.17 Unterschiede der einzelnen epigenetischen Marker des Patientenkollektivs zu den Untersuchung V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen)

4.4 Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen epigenetischen Faktoren und Änderungen der Psychopathologie des Patientenkollektivs im Behandlungsverlauf

Die Positive und Negative Syndrome Scale (PANSS) wurde zu den Visiten V0 (Baseline), V1 (nach 2 Wochen), V2 (nach 4 Wochen) und V3 (nach 6 Wochen) erhoben und die Verlaufswerte der einzelnen Summenskalen (Gesamtwert, Globalskala, Positivskala, Negativskala) ermittelt. Darüber hinaus wurden auch geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht.

4.4.1 Veränderungen des PANSS-Gesamtwertes

Tabelle 4.11 gibt eine Übersicht über die durchschnittlichen PANSS-Gesamtwerte der einzelnen Visiten. Mittels einer ANOVA mit Messwiederholung (Sphärizität abgelehnt: Mauchly-W = .38, $p = .00$) mit Greenhouse-Geißer-Korrektur konnte ein Zusammenhang der PANSS-Gesamtwerte mit der Behandlungsdauer festgestellt werden ($F = 5.86$, $p < .01$, partielles $\eta^2 = .23$). Es zeigte sich eine kontinuierliche Reduzierung der PANSS-Gesamtwerte zwischen den einzelnen Messzeitpunkten (siehe Tabelle 4.11), Bonferroni-korrigierte paarweise Vergleiche zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede (von Baseline bis Behandlung nach 6 Wochen: $p = .07$). Bei geschlechtsspezifischen Vergleichen konnte für männliche Probanden bei Bonferroni-korrigierten paarweise Vergleichen eine signifikante Reduzierung der PANSS-Gesamtwerte von V0 bis V3 ermittelt werden ($p < .01$).

Tabelle 4.11 Übersicht PANSS-Gesamtwerte V0 bis V3, N = 21

	V0	SD	V1	SD	V2	SD	V3	SD
PANSS Gesamtwert	82,0	26,71	73,48	14,27	66,62	14,39	62,24	13,55
t								
M (N=13)	87,46	31,07	76,0	15,36	67,38	15,19	60,08	10,10
W (N=8)	73,13	15,41	69,38	12,09	65,38	13,92	65,75	18,09

4.4.2 Veränderungen des PANSS-Globalwertes

Tabelle 4.12 gibt eine Übersicht über die durchschnittlichen Werte bei den einzelnen Visiten. Mittels einer ANOVA mit Messwiederholung (Sphärizität angenommen: Mauchly-W = .53, $p = .02$) konnte ein Zusammenhang der PANSS-Globalwerte mit der Behandlungsdauer festgestellt werden ($F = 5.83$, $p < .01$, partielles $\eta^2 = .21$). Es kam zu einer kontinuierlichen Reduzierung der PANSS-Globalwerte

zwischen den einzelnen Messzeitpunkten (siehe Tabelle 4.12), Bonferroni-korrigierte paarweise Vergleiche zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen V0 und V3 ($p = .03$), nicht jedoch zwischen den übrigen Messzeitpunkten. Bei geschlechtsspezifischen Vergleichen konnte nur für männliche Probanden bei Bonferroni-korrigierten paarweisen Vergleichen eine signifikante Reduzierung der PANSS-Globalwerte von V0 bis V3 ermittelt werden ($p < .01$).

Tabelle 4.12 Übersicht PANSS-Globalwerte V0 bis V3, N = 23 (V= Visite, SD = Standardabweichung)

	V0	SD	V1	SD	V2	SD	V3	SD
PANSS Globalwert	39,22	12,73	35,61	8,18	32,43	6,80	30,13	7,05
M (N=15)	41,07	14,92	36,80	9,16	32,27	7,42	29,47	5,24
W (N=8)	35,75	6,54	33,38	5,81	32,75	5,90	31,38	9,93

4.4.3 Veränderungen des PANSS-Positivwertes

Tabelle 4.13 gibt eine Übersicht über die durchschnittlichen Werte der einzelnen Visiten. Mittels einer ANOVA mit Messwiederholung (Sphärizität abgelehnt: Mauchly-W = .33, $p < .01$) mit Greenhouse-Geißer-Korrektur konnte ein Zusammenhang der PANSS-Positivwerte mit der Behandlungsdauer festgestellt werden ($F = 5.63$, $p < .01$, partielles $\eta^2 = .21$). Es zeigte sich auch hier eine kontinuierliche Reduzierung der PANSS-Positivwerte zwischen den einzelnen Messzeitpunkten (siehe Tabelle 4.13), Bonferroni-korrigierte paarweise Vergleiche zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen V1 und V3 ($p = .02$), nicht jedoch zwischen den übrigen Messzeitpunkten. Bei geschlechtsspezifischen Vergleichen konnten keine signifikanten Unterschiede der PANSS-Positivwerte von V0 bis V3 ermittelt werden.

Tabelle 4.13 Übersicht PANSS-Positivwerte V0 bis V3, N = 22 (V= Visite, SD = Standardabweichung)

	V0	SD	V1	SD	V2	SD	V3	SD
PANSS Positivwert	19,41	7,70	17,36	4,95	15,36	4,82	14,36	4,92
M (N=14)	20,79	8,37	17,86	5,49	15,50	4,78	14,57	4,97
W (N=8)	17,0	6,12	16,50	4,04	15,12	5,19	14,0	5,16

4.4.4 Veränderungen des PANSS-Negativwertes

Tabelle 4.14 gibt eine Übersicht über die durchschnittlichen Werte der einzelnen Visiten. Mittels einer ANOVA mit Messwiederholung (Sphärizität abgelehnt: Mauchly-W = .27, $p = .00$) mit Greenhouse-Geißer-Korrektur konnte kein Zusammenhang der PANSS-Negativwerte mit der Behandlungsdauer festgestellt werden ($F = 3,43$, $p = .05$, partielles $\eta^2 = .14$). Es kam zu einer kontinuierliche Reduzierung der PANSS-Negativwerte zwischen den einzelnen Messzeitpunkten (siehe Tabelle 4.14), Bonferroni-korrigierte paarweise Vergleiche zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede (von Baseline bis Behandlung nach 6 Wochen: $p = .31$). Bei geschlechtsspezifischen Vergleichen konnte für männliche Probanden bei Bonferroni-korrigierten paarweise Vergleichen eine signifikante Reduzierung der PANSS-Negativwerte von V1 bis V3 ermittelt werden ($p = .04$). Bei den weiblichen Patienten reduzierten sich die Werte zunächst von V0 bis V2, zu V3 erreichten sie jedoch wieder den Ausgangswert.

Tabelle 4.14 Übersicht PANSS-Negativwerte V0 bis V3, N = 22 (V= Visite, SD = Standardabweichung)

	V0	SD	V1	SD	V2	SD	V3	SD
PANSS Negativwerte	22,23	8,91	20,00	6,07	18,14	5,43	17,14	6,03
M (N=14)	23,29	9,63	20,29	6,08	18,50	5,71	15,29	4,07
W (N=8)	20,38	7,73	19,50	6,44	17,50	5,21	20,38	7,73

4.4.5 Responder

Tabelle 4.15 zeigt die mittels der klinischen Gesamtwerte der PANSS ermittelten Responderraten. Responderraten werden allgemein definiert als Anteil derjenigen Probanden, die auf eine bestimmte Behandlung ansprechen. Hierfür wird die prozentuale Reduzierung der Symptomatik eines Probanden berechnet und ein Cutoff-Wert definiert, ab dem ein Proband als Responder gilt. Dieser Cutoff-Wert kann zwischen verschiedenen klinischen Untersuchungen stark variieren, wobei ein Cutoff-Wert von mindestens 50 % empfohlen wird (Leucht et al., 2007). In der vorliegenden Studie wurden zur Ermittlung der Responderrate die PANSS-Gesamtwerte der Baselinevisite (V0) und der Visite nach 6 Wochen Behandlung (V3) verglichen, durch drop outs ergab sich eine verbleibende Stichprobenanzahl von 26 Probanden. Für die Berechnung der prozentualen Veränderungen wurden im Vorfeld von den Gesamtwerten jeweils 30 Punkte subtrahiert, die auswertungsbedingt dem minimalen PANSS-Score und

einer klinischen Symptombefreiheit entsprechen (Leucht et al., 2010). Bei 10 der 26 Patienten (38,5%) war zum Zeitpunkt V3 der PANSS-Gesamtwert um mindestens 50% reduziert (Responder), weitere 9 Patienten (34,6%) zeigten eine geringere Reduzierung. Insgesamt kam es bei 19 Patienten (73,1%) zu Verbesserungen und bei 7 Patienten (26,9%) zu einer Verschlechterung der klinischen Symptomatik.

Tabelle 4.15 Übersicht über die prozentuale Verbesserung der PANSS-Gesamtwerte der Patienten zu V3. * = Responder

PANSS- Verbesserung (%)	1-24	25-49	50-74 *	75-100 *
N	3 (11,5%)	6 (23,1%)	6 (23,1%)	4 (15,4%)

4.4.6 Analyse einer Korrelation zwischen epigenetischen Markern und der Psychopathologie

Bei der Korrelationsanalyse der PANSS-Skalen mit den einzelnen epigenetischen Markern ergaben sich zwei signifikante Korrelationen zum Aufnahmezeitpunkt (V0).

Die Punktzahlen der Positivskala korrelierten signifikant negativ mit dem Messwert des epigenetischen Markers der globalen DNA-Methylierung ($|r| = .44$, $p < .01$). Dies ist graphisch in Abbildung 4.18 dargestellt.

Je niedriger der prozentuale Anteil globaler DNA-Methylierung, desto höher ist der Punktwert der Positivskala oder je höher der prozentuale Anteil globaler DNA-Methylierung, desto niedriger ist der Punktwert der Positivskala. Dabei handelt es sich nach Cohen (1992) um einen mittleren Effekt.

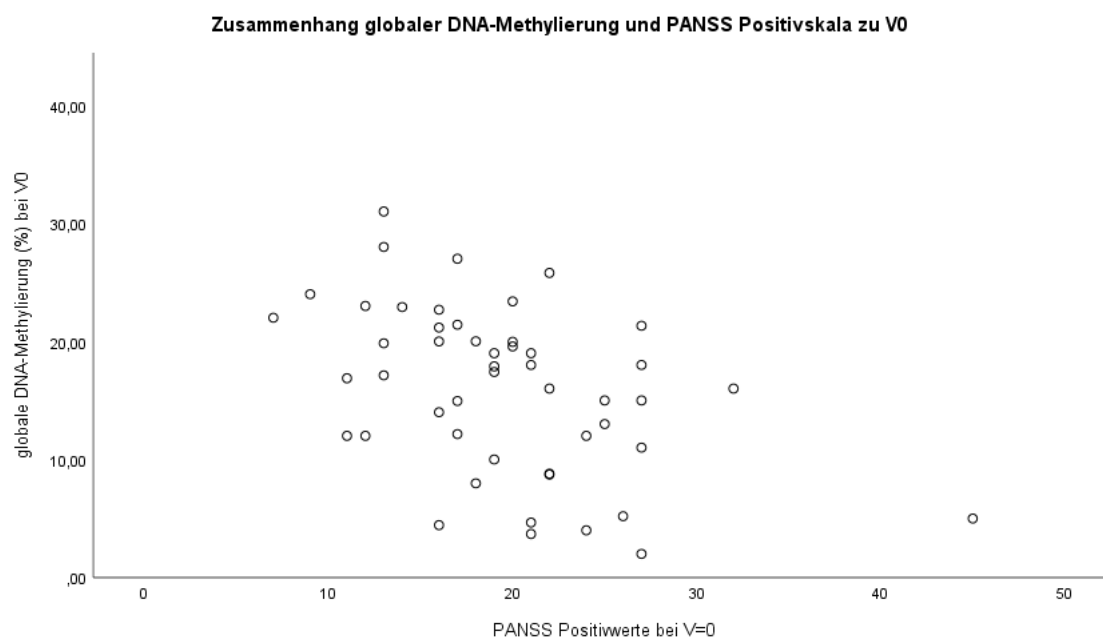


Abbildung 4.18 Zusammenhang der globalen DNA-Methylierung (%) und der PANSS-Positivskala im Patientenkollektiv zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Ebenso korrelierten die Punktzahlen der Positivskala signifikant negativ mit dem Messwert des epigenetischen Markers der TET-1-Enzymaktivität ($|r| = .49$, $p < .01$), graphisch in Abbildung 4.19 ersichtlich.

Je niedriger die TET-1-Enzymaktivität, desto höher ist der Punktwert der Positivskala oder je höher die TET-1-Enzymaktivität, desto niedriger ist der Punktwert der Positivskala. Dabei handelt es sich nach Cohen (1992) um einen mittleren Effekt.

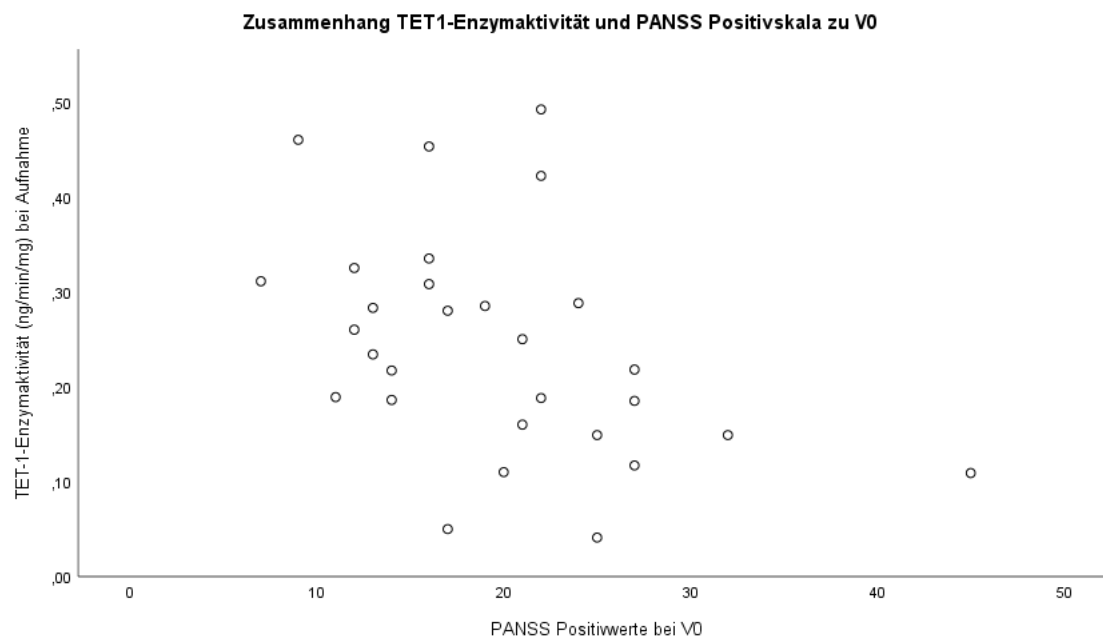


Abbildung 4.19 Zusammenhang der globalen TET-1-Enzymaktivität (ng/min/mg) und der PANSS-Positivskala im Patientenkollektiv zum Zeitpunkt V0 (Baseline)

Bei allen übrigen Korrelationsanalysen ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge. Die Korrelationskoeffizienten sowie die p-Werte der signifikanten Ergebnisse sind in Tabelle 4.16 ersichtlich.

Tabelle 4.16 Signifikante Korrelationen nach Spearman zwischen der PANSS-Positivskala und der globalen DNA-Methylierung bzw. der TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0

PANSS- Skala	Globale DNA-Methylierung	TET-1
	N = 49	N = 29
Positivskala	r = .44	r = .49
	p = <.01	p < .01

4.5 Korrelationen zwischen traumatischen Kindheitserlebnissen und dem Ausprägungsgrad epigenetischer Faktoren innerhalb der gesunden Kontrollgruppe

Traumatische Kindheitserlebnisse gelten als Risikofaktoren für physische und psychische Erkrankungen und einem verminderten sozialen Funktionsniveau. In einer retrospektiven Studie von Rosenberg et al. (2007) gaben 18% der an einer Schizophrenie erkrankten Probanden ein traumatisches Kindheitserlebnis und 46% drei oder mehr negative Erlebnisse an. Auch andere Studien bestätigten Zusammenhänge zwischen Kindheitstraumata und der Entwicklung einer psychotischen Symptomatik. Durch negative Lebensereignisse kommt es über epigenetische Modifikationen zu Änderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Aktivität (HPA-Achse) und dadurch zu Veränderungen im Stresssystem des Betroffenen (Read et al., 2009). In einer Studie von Janusek et al. (2017) an 34 gesunden afroamerikanischen Männern im Alter von 18-25 Jahren zeigte sich eine signifikant negative Korrelation zwischen Kindheitstraumata und der DNA-Methylierung des IL-6 Promoters, was wiederum zu höheren IL-6 Konzentrationen und somit zu einer verstärkten Stressreaktion führte. Houtepen et al. (2016) fanden bei Untersuchungen von gesunden Probanden signifikante Korrelationen zwischen erlebten Kindheitstraumata und Methylierungsmustern des KITLG Gens. Es existieren weitere Studien an gesunden Probanden, die Zusammenhänge zwischen negativen Kindheitserlebnissen und epigenetischen Veränderungen nahelegen.

Um dies weiter zu explorieren, sollen im Folgenden innerhalb der gesunden Kontrollgruppe Korrelationen zwischen Kindheitstraumata und Veränderungen der in dieser Studie gemessenen epigenetischen Marker untersucht werden. Hierfür wurden 88 gesunde Probanden mittels des Childhood Trauma Questionnaire (siehe Kapitel 3.2.2) zu den Kategorien emotionale Vernachlässigung, emotionaler Missbrauch, sexueller Missbrauch und körperlicher Vernachlässigung bzw. Missbrauch befragt. Die deskriptive Auswertung des Fragebogens erfolgte standardisiert, die Ergebnisse sind in Tabelle 4.17 dargestellt (Schweregradeinteilung nach Häuser und Kollegen, 2011). Keiner der Befragten wurde in der Skala „Bagatellisierung / Verleugnung“ auffällig. Da die Studie retrospektiv durchgeführt wurde, war eine Befragung des Patientenkollektivs leider nicht möglich.

Tabelle 4.17 Prozentuale Verteilung der Ergebnisse des CTQ innerhalb des Kontrollkollektivs, N=88

Skala	nicht bis minimal	minimal bis mäßig	mäßig bis schwer	schwer bis extrem
Emotionale Vernachlässigung	61,4	27,3	4,6	6,8
Emotionaler Missbrauch	84,2	15,8	0	0
Sexueller Missbrauch	98,9	0	1,1	0
Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch	61,4	23,9	9,1	5,6

4.5.1 Emotionale Vernachlässigung

Bei der Korrelationsanalyse der Skala „Emotionale Vernachlässigung“ mit den einzelnen epigenetischen Markern ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Die Korrelationskoeffizienten sowie die p-Werte sind in Tabelle 4.18 ersichtlich.

Tabelle 4.18 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Emotionale Vernachlässigung" und den jeweiligen epigenetischen Markern

Skala	Globale DNA- Methylierung	Globale DNA- Hydroxymethylierung	DNMTs	TET-1
Emotionale Vernachlässigung	N = 87	N = 70	N = 87	N = 87
	r = .02	r < .01	r = .06	r = .12
	p = .82	p = .98	p = .55	p = .28

4.5.2 Emotionaler Missbrauch

Die Punktzahlen der klinischen Ratingskala „Emotionaler Missbrauch“ korrelierte signifikant mit dem Messwert des epigenetischen Markers der globalen DNA-Hydroxymethylierung ($r = .25$, $p = .04$). Je mehr emotionalen Missbrauch eine Person erlitten hat, desto höher ist der Anteil an prozentualer globaler DNA-Hydroxymethylierung oder je höher der Anteil an globaler DNA-Hydroxymethylierung, desto mehr emotionalen Missbrauch hat eine Person erlitten. Dabei handelt es sich nach Cohen (1992)

um einen schwachen Effekt. In Tabelle 4.19 sind die Korrelationskoeffizienten sowie die p-Werte ersichtlich.

Tabelle 4.19 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Emotionaler Missbrauch" und den jeweiligen epigenetischen Markern

Skala	Globale DNA-Methylierung	Globale DNA-Hydroxymethylierung	DNMTs	TET-1
Emotionaler Missbrauch	N = 87	N = 70	N = 87	N = 87
	r = .04	r = .25	r = .05	r = .04
	p = .73	p = .04	p = .66	p = .72

4.5.3 Sexueller Missbrauch

Von den 88 Probanden gaben 87 Probanden an, keine sexuelle Gewalt in der Kindheit erlebt zu haben (Punktwert CTQ = 5, entsprechend dem niedrigst möglichen Wert). Ein Proband gab einen Punktwert von 10 an (mäßig bis schwerer sexueller Missbrauch). Aufgrund der konstanten Verteilung der Variablen „sexueller Missbrauch“ konnte keine aussagekräftige Korrelationsanalyse durchgeführt werden.

4.5.4 Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch

Bei der Korrelationsanalyse der Skala „Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch“ mit den einzelnen epigenetischen Markern ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Die Korrelationskoeffizienten sowie die p-Werte sind in Tabelle 4.20 ersichtlich.

Tabelle 4.20 Korrelationen nach Spearman zwischen der Skala "Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch" und den jeweiligen epigenetischen Markern

Skala	Globale DNA-Methylierung	Globale DNA-Hydroxymethylierung	DNMTs	TET-1
Körperliche Vernachlässigung und körperlicher Missbrauch	N = 87	N = 70	N = 87	N = 87
	r = .02	r = .17	r = .10	r = .01
	p = .88	p = .17	p = .38	p = .95

5 DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Studie war ein Vergleich der im Folgenden aufgeführten spezifischen epigenetischen Biomarker in mononukleären peripheren Blutzellen schizophrener Patienten und gesunder Kontrollprobanden. Innerhalb des Patientenkollektivs sollten zudem Veränderungen der epigenetischen Marker im Behandlungsverlauf und evtl. damit korrelierende Änderungen der klinischen Psychopathologie detektiert werden, als klinische Ratingskala diente die Positive and Negative Syndrome Scale. Überdies wurden innerhalb des Kontrollkollektivs Zusammenhänge zwischen traumatischen Kindheitserfahrungen und der Ausprägung der untersuchten epigenetischen Marker untersucht. Zur Erfassung ggf. vorliegender Kindheitstraumata wurde der Childhood Trauma Questionnaire durchgeführt. Der Beobachtungszeitraum betrug 6 Wochen. Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Arbeit diskutiert werden.

5.1 Epigenetische Marker

5.1.1 Globale DNA-Methylierung

Bei der Untersuchung der prozentualen globalen Methylierung peripherer mononukleärer Blutzellen zeigte sich zum Zeitpunkt V0 (Baseline) innerhalb der Patientengruppe ein Mittelwert von 15,47 % (SD 7,05), während die globale Methylierung innerhalb der Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von 5,70 % (SD 4,04) signifikant niedriger war ($p < .001$). Auch im Vergleich der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt V0 mit der Patientengruppe nach 6 Wochen Behandlung (V3) zeigte sich ein signifikanter Unterschied, der Mittelwert der Patientengruppe betrug 19,00 % (SD 10,39) und war somit signifikant höher als der der Kontrollgruppe ($p = .00$). Zwischen den Untersuchungszeiträumen V0 und V3 kam es zu keiner signifikanten Änderung der prozentualen globalen Methylierung innerhalb des Patientenkollektivs ($p = .07$), im Mittel stieg der Grad der globalen Methylierung von 15,47 % auf 19,00 % an. Allerdings gilt es zu beachten, dass durch viele drop outs die Patientenstichprobenanzahl zum Zeitpunkt V3 nur noch 18 Teilnehmer betrug, weshalb nur Tendenzen interpretiert werden können. Für eine aussagekräftigere Schlussfolgerung ist eine höhere Stichprobenanzahl nötig.

Kinoshita et al. (2013) untersuchten ebenfalls Unterschiede der DNA-Methylierungsmuster peripherer Leukozyten zwischen 24 schizophrenen Patienten und 23 gesunden Kontrollprobanden. Bei 92,4 % der untersuchten DNA-Loci zeigte sich eine signifikant höhere DNA-Methylierung im Patientenkollektiv, 65,4 % hiervon in CpG-Inseln und flankierenden DNA-Regionen. In der beschriebenen Studie wurden zudem 3 monozygote Zwillingspaare untersucht, die diskordant bzgl. einer schizophrenen Erkrankung waren. Auch hier zeigte sich eine signifikant höhere DNA-Methylierung bei dem erkrankten im Vergleich zum gesunden Zwilling. Nishioka et al. (2013) wiesen hingegen in einer Untersuchung von 18 Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie und 15 gesunden Kontrollprobanden eine signifikante globale Hypomethylierung an CpG-Inseln der erkrankten Patientenstichprobe nach. Dies

deckt sich mit Ergebnissen anderer Studien, wobei in spezifischen Genen (S-COMT) eine signifikant höhere Hypermethylierung bei Patienten gefunden wurde (Melas et al., 2012). Dempster et al. (2011) konnten in Zwillingsstudien mit 22 monozygoten, bzgl. einer Schizophrenie diskordanten Zwillingspaaren zwar keine signifikanten Unterschiede der globalen DNA-Methylierung in peripheren mononukleären Blutzellen, jedoch signifikant höhere Hypo- bzw. Hypermethylierungen in CpG-Regionen bestimmter Gene finden, z.B. des PUS3- oder SYNGR2-Gens. Die Ergebnisse deckten sich zum Teil mit ebenfalls in dieser Studie untersuchten post-mortem Hirngewebeproben. In einer groß angelegten Fall-Kontroll-Studie mit Blutzellen von 689 schizophrenen Patienten und 645 gesunden Kontrollprobanden fanden Montano et al. (2016) Methylierungsunterschiede in 172 CpG-Inseln, einige davon in Genen, die bereits zuvor mit Schizophrenien in Verbindung gebracht wurden, wie beispielsweise RPS6KA1 und DDR1. Dies deckt sich mit Ergebnissen einer schwedischen Studie mit Blutzellen von 759 schizophrenen Patienten und 738 gesunden Kontrollprobanden, in der unter anderem eine gesteigerte Methylierung des RELN Gens nachgewiesen werden konnte (Aberg et al., 2014). In einer post mortem Fall-Kontroll-Studie untersuchten Pai et al. (2019) neuronale Gehirnzellen des Präfrontalkortex von 55 schizophrenen oder bipolaren Patienten und 27 gesunden Kontrollprobanden. Hierbei konnten sie 18 Genregionen mit signifikanten Methylierungsunterschieden nachweisen, die u.a. in Zusammenhang mit der Embryonalentwicklung, der Neurotransmission und der Immunabwehr stehen. Zwei dieser Regionen befanden sich im IGF2-Gen, welches sowohl bei schizophrenen als auch bei bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant hypomethyliert war. Man vermutet, dass es durch die Hypomethylierung am IGF2-Gen zu einer Steigerung des Tyrosinhydroxylase- Levels und somit zu einer gesteigerten Dopaminsynthese kommt. Bei Vergleich all dieser Studien gilt es zu beachten, dass sie Unterschiede in der Stichprobenanzahl, in demographischen Faktoren (Ethnizität, Alter, Geschlecht), in der medikamentösen Behandlung und den untersuchten Genen aufweisen.

5.1.2 Globale DNA-Hydroxymethylierung

Bei der prozentualen globalen DNA-Hydroxymethylierung konnte weder beim Gruppenvergleich zum Zeitpunkt V0 ($p = .49$) noch beim Vergleich der Kontrollen zum Zeitpunkt V0 und der Patienten zum Zeitpunkt V3 ($p = .56$) ein signifikanter Unterschied detektiert werden. Auch der Vergleich innerhalb der Patientengruppe zu den Zeitpunkten V0 und V3 ergab keinen signifikanten Unterschied ($p = .20$). Es existieren nur wenige Studien zu globalen Hydroxymethylierungsmustern in peripheren Blutzellen von schizophrenen Patienten. Zong et al. (2017) untersuchten globale Methylierungs- und Hydroxymethylierungsmuster peripherer weißer Blutzellen von 279 schizophrenen Patienten und 256 gesunden Kontrollprobanden. Es fanden sich signifikant gesteigerte Methylierungs- und Hydroxymethylierungsmuster in verschiedenen Untereinheiten der untersuchten GABRB2-Promoterregionen der schizophrenen Patientengruppe. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer Studie

von Jiang et al. (2017) an 264 schizophrenen Patienten und 221 gesunden Kontrollprobanden, in der sich signifikant erhöhte globale DNA-Hydroxymethylierungsmuster (5hmC-Niveaus) in peripheren Blutzellen des Patienten- im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv fanden. Zudem wurden geschlechtsspezifische Unterschiede innerhalb der Patientengruppe gefunden (5hmC Level Männer > Frauen). Dong et al. (2012) fanden in post-mortem Studien signifikant erhöhte Mengen von 5-Hydroxymethylcytosin im inferioren Parietallappen schizophrener Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Es zeigte sich aber auch, dass in anderen Hirnregionen kein Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe bestand, was auf eine hohe regionale Spezifität epigenetischer Marker schließen lässt. Zu dieser Schlussfolgerung kam auch eine Studie von Nestor et al. (2012), in der 5hmC-Niveaus von 8 verschiedenen menschlichen Gewebearten und embryonalen Stammzellen untersucht wurden. Es zeigte sich, dass die prozentuale globale Hydroxymethylierung in Gehirngewebe 4-fach höher war als in Brustgewebe und über 1000-fach höher als in peripheren Blutzellen oder embryonalen Stammzellen. Zudem fand die Forschungsgruppe Genregion-abhängige Unterschiede der DNA-Hydroxymethylierungsmuster innerhalb der einzelnen Gewebearten.

Eine aufgrund der bisherigen Studienlage vermutete erhöhte globale DNA-Hydroxymethylierung bei schizophrenen Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden konnte in dieser Studie nicht gefunden werden. Dies könnte an der deutlich geringeren Stichprobenanzahl und demographischen Unterschieden liegen, beispielsweise fanden oben genannte Untersuchungen globaler DNA-Hydroxymethylierung in peripheren Blutzellen im asiatischen Raum statt. Interessant ist auch der beschriebene geschlechterspezifische Unterschied in der Studie von Jiang et al. (2017), doch auch dieser bestand in der vorliegenden Studie weder zum Zeitpunkt V0 ($p=0.79$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p=0.99$), wobei beachtet werden muss, dass die Stichprobenanzahl deutlich kleiner war. Im Vergleich der vorliegenden Studie mit post-mortem Studien an Gehirngewebe lassen sich aufgrund gewebespezifischer Unterschiede nur Tendenzen vergleichen. Generell scheint in der Mehrzahl der Studien eine signifikant höhere globale DNA-Hydroxymethylierung bei erkrankten Probanden vorzuliegen. Zukünftig sollten Gewebe- und Locus-spezifische Untersuchungen an größeren Probandenstichproben durchgeführt werden, um dies genauer zu untersuchen.

5.1.3 DNMT-Enzymaktivität

Die DNMT-Enzymaktivität unterschied sich nicht signifikant zwischen dem Patienten- und Kontrollkollektiv zum Zeitpunkt V0 ($p = .06$). Auch im Vergleich der DNMT-Enzymaktivität der Kontrollen zum Zeitpunkt V0 und der Patienten zum Zeitpunkt V3 war kein signifikanter Unterschied ersichtlich ($p = .06$). Innerhalb der Patientengruppe konnte keine signifikante Änderung der DNMT-Aktivität im Studienverlauf nachgewiesen werden ($p = .18$). Im Gegensatz zu einer Studie von Jiang et al. (2018), in der geschlechtsspezifische Unterschiede der DNMT Konzentrationen bei peripheren Lymphozyten schizophrener Patienten nachgewiesen wurden, konnten in der vorliegenden Studie keine

Mittelwertsunterschiede der DNMT-Enzymaktivität zwischen männlichen und weiblichen Patienten gemessen werden, weder zum Zeitpunkt V0 ($p = .96$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = .81$).

Oben genannte Ergebnisse decken sich nicht mit der aktuellen Studiendatenlage. Auta et al. (2013) konnten in einer Studie mit 28 Patienten und 21 Kontrollprobanden einen Anstieg der DNMT1 mRNA Expression in peripheren mononukleären Zellen um 40 % nachweisen. Einschlussdiagnosen der Patientengruppe waren allerdings im Gegensatz zu der vorliegenden Studie sowohl Schizophrenien als auch schizoaffective Störungen. Bei 8 der Patienten wurden die Werte bei Aufnahme und nach 8 Wochen Behandlung verglichen, allerdings keine signifikanten Unterschiede gefunden. Dies deckt sich mit Beobachtungen in der vorliegenden Studie. Die Ergebnisse entsprechen Untersuchungen von Dong et al. (2015), in denen die DNMT1 mRNA Expression in peripheren Lymphozyten schizophrener Patienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe ebenfalls um 30-40 % gesteigert war. Zhubi et al. (2009) untersuchten Unterschiede der DNMT mRNA Expressionsniveaus in peripheren Lymphozyten von 29 schizophrenen Patienten und 33 gesunden Kontrollprobanden. Die Ergebnisse zeigten eine signifikant höhere DNMT1- und DNMT3a-mRNA-Expression im Blut der schizophrenen Probanden. Li et al. (2018) beschreiben ebenfalls erhöhte DNMT1 Konzentrationen bei schizophrenen Patienten, wobei nur der Unterschied der weiblichen Patienten mit der Kontrollgruppe signifikant war. Aufgrund der ungleichen Geschlechterverteilung innerhalb des Patientenkollektivs der vorliegenden Studie wurden die DNMT-Enzymaktivitäten der männlichen und weiblichen Patienten miteinander verglichen, wiesen jedoch weder zum Zeitpunkt V0 ($p = 0.96$) noch zum Zeitpunkt V3 ($p = 0.81$) signifikante Unterschiede auf. Im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung beschreiben alle anderen aufgeführten Studien Veränderungen des DNMT-mRNA-Niveaus oder der direkten Enzymmenge, nicht wie hier der Enzymaktivität. Auch wenn direkte Korrelationen zwischen diesen Variablen aufgezeigt wurden, entsprechen die mRNA-Niveaus oder Proteinmengen nicht zwangsläufig 1:1 der Aktivität des exprimierten Gens. Dies könnte die unterschiedlichen Ergebnisse erklären.

5.1.4 TET-1-Enzymaktivität

Bei der Untersuchung der TET-1-Enzymaktivität zeigte sich bei Studienbeginn (V0) ein signifikanter Unterschied zwischen dem Patienten- und Kontrollkollektiv ($p = .00$). Die TET-1-Enzymaktivität des Patientenkollektivs ($N = 37$) war mit 0,29 ng/min/mg ($SD = 0,20$) signifikant gesteigert im Vergleich zu 0,17 ng/min/mg ($SD = 0,11$) im Kontrollkollektiv ($N=87$). Innerhalb des Patientenkollektivs ergab sich zum Zeitpunkt V0 bei einer getrennten Betrachtung der prämedizierten ($N = 22$) und nicht-prämedizierten ($N = 7$) Patienten ein signifikanter Unterschied ($p = .03$), das prämedizierte Untersuchungskollektiv wies einen Mittelwert von 0,27 ng/min/mg ($SD 0,11$), das nicht prämedizierte Untersuchungskollektiv einen Mittelwert von 0,16 ng/min/mg ($SD 0,09$) auf. Die TET-1-Enzymaktivität des nicht-prämedizierten Patientenkollektivs ($N = 7$) unterschied sich nicht signifikant von der des gesunden Kontrollkollektivs ($N = 87$), die Enzymaktivität des prämedizierten Patientenkollektivs ($N =$

22) war im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant erhöht. Allerdings können hier nur Tendenzen beschrieben werden, da durch fehlende Anamneseangaben für die Vergleiche nur eine geringe Stichprobenzahl besteht. Die TET-1-Enzymaktivität innerhalb des Patientenkollektivs reduzierte sich, wenn auch nicht signifikant, zwischen V0 und V3 ($p = .25$). Auch bei einem Vergleich der Werte der Kontrollprobanden zu V0 ($M = 0,17 \text{ ng/min/mg}$, $SD = 0,11$) und der Patienten zu V3 ($M = 0,23 \text{ ng/min/mg}$, $SD 0,14$) blieb der Unterschied signifikant, wenn auch geringer ausgeprägt ($p = .03$).

Die Studienlage zu dieser Thematik ist zum aktuellen Zeitpunkt sehr gering, in den wenigen anderen Studien wurden jedoch ähnliche Tendenzen beobachtet. Auta et al. (2013) stellten bei der Untersuchung von 28 schizophrenen Patienten und 21 gesunden Kontrollen einen Anstieg der TET-1 mRNA in peripheren Blutzellen von fast 50 % fest. Auch Li et al. (2018) fanden signifikant erhöhte TET-1-Proteinniveaus in peripheren Blutzellen von 53 nicht-prämedizierten Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie im Vergleich zu 57 gesunden Kontrollprobanden. Die meisten bisher bestehenden Studien untersuchten neuronale Gewebe. Hierbei konnten signifikante Steigerungen der TET-1 mRNA Level im Parietallappen (Dong et al., 2012) und präfrontalen Cortex (Dong et al., 2015) schizophrener Patienten nachgewiesen werden. Der in letzterer Studie gemessene Anstieg der TET-1 mRNA im präfrontalen Cortex um 30-40% ähnelt den Ergebnissen von Auta et al. (2013) in peripheren Blutzellen. Bei der Interpretation der Ergebnisse gilt zu beachten, dass sich die Studien in den untersuchten Gewebematerialien (periphere Blutzellen versus neuronale Gehirnzellen) und Untersuchungsvariablen (TET-1 mRNA, TET-1 Proteinniveau, TET-1-Enzymaktivität) unterscheiden. Auch demographische Faktoren und verschieden große Stichprobenanzahlen gilt es zu berücksichtigen. Vergleicht man die Tendenzen oben genannter Studien, scheint die TET-1-Expression und TET-1-Enzymaktivität bei schizophrenen Patienten in verschiedenen Geweben signifikant gesteigert zu sein. Die Veränderungen der TET-1-Enzymaktivität im Behandlungserlauf dieser Studie deutet auf einen evtl. bestehenden Einfluss medikamentöser Behandlung hin. Um dies jedoch genauer zu untersuchen, bedarf es einer Folgeuntersuchung mit einer größeren Probandenanzahl, klar definierten Medikamentengruppen und einem längeren Beobachtungszeitraum. Dasselbe gilt für die Vergleichsuntersuchung prämedizierter und nicht-prämedizierter Patienten zu Studienbeginn.

In Zusammenschau bisheriger Studien und bekannter physiologischer Prozesse (siehe Kapitel 2.2.2) stellt sich in der vorliegenden Arbeit die Frage, weshalb trotz einer signifikanten Steigerung der TET-1 Enzymaktivität keine signifikant gesteigerte globale DNA-Hydroxymethylierung gemessen werden konnte. Mögliche Ursachen könnten der kurze Beobachtungszeitraum von 6 Wochen oder auch die Reversibilität epigenetischer Veränderungen darstellen.

5.1.5 HAT-Enzymaktivität

Die HAT-Enzymaktivität der Patienten unterschied sich nicht signifikant zwischen den Untersuchungszeitpunkten V0 und V3 ($p = .10$). Da es sich bei dieser Untersuchung um eine

Nebenfragestellung handelte und die Daten retrospektiv und nur für das Patientenkollektiv erhoben wurden, konnte leider kein Gruppenvergleich mit dem Kontrollkollektiv stattfinden.

In einer post-mortem Studie beschreiben Tang et al. (2011) eine Hypoacetylierung spezifischer Promoter-Regionen Schizophrenie-assoziiierter Gene wie beispielsweise des GAD1-Gens im präfrontalen Cortex schizophrener Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollen (Hasan et al., 2013). Dies würde eine Reduzierung der Expression des GAD1-Gens und somit Störungen in der Strukturneubildung des Gehirns und im GABA-Stoffwechsel nach sich ziehen (siehe Kapitel 2.2.3).

5.1.6 HDAC-Enzymaktivität

In der Verlaufsuntersuchung sank die HDAC-Enzymaktivität innerhalb des Patientenkollektivs zwischen V0 und V3 ab, es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied gefunden werden ($p = .54$). Innerhalb des Patientenkollektivs bestanden signifikante geschlechtsabhängige Unterschiede der HDAC-Enzymaktivität zu V0 ($p = .02$), diese betrug beim männlichen Patientenkollektiv ($N = 25$) 684,24 RFU/h/ μ g (SD 537,68), beim weiblichen Patientenkollektiv ($N = 19$) nur 390,05 RFU/h/ μ g (SD 164,46). Zu V3 waren die Unterschiede der HDAC-Enzymaktivität zwischen beiden Geschlechtern (Männer: $M 468,61$, SD 292,25; Frauen: $M 389,92$, SD 217,34) nicht signifikant ($p = .42$). Da es sich bei dieser Untersuchung um eine Nebenfragestellung handelte und die Daten retrospektiv und nur für das Patientenkollektiv erhoben wurden, konnte leider kein Gruppenvergleich mit dem Kontrollkollektiv stattfinden.

Sharma et al. (2008) verglichen post-mortem Enzymexpressionsniveaus im präfrontalen Cortex von 37 psychiatrisch erkrankten und 27 gesunden Probanden. Innerhalb des Patientenkollektivs war bei 16 Individuen eine Schizophrenie, bei 18 eine bipolare Störung und bei 3 eine schizoaffektive Störung vordiagnostiziert. Über beide Probandengruppen hinweg wiesen Frauen ein signifikant höheres HDAC1 Signalniveau auf. Im Vergleich der schizophrenen Patienten mit gesunden Kontrollen zeigte sich eine signifikant höhere HDAC1 mRNA Expression im präfrontalen Cortex der Patienten. Ebenso wurde eine erhöhte HDAC1 Expression im Hippocampus schizophrener Patienten nachgewiesen (Benes et al., 2008). In einem Vergleich von 11 schizophrenen und 7 bipolaren Patienten konnte ein signifikant niedrigeres Niveau globaler H3K9,K14-Acetylierung in peripheren Lymphozyten schizophrener Patienten gemessen werden. In derselben Studie konnte durch eine 4-wöchige Behandlung mit dem HDAC-Inhibitor Valproat in beiden Probandengruppen die H3K9,K14-Acetylierung signifikant gesteigert werden, es bestand eine positive Korrelation zwischen dem H3K9,K14ac-Niveau und dem Valproat-Medikamentenspiegel im Blut der Probanden (Gavin et al., 2009). Nimmt man nun an, das globale Acetylierungsniveau korreliert negativ mit der HDAC-Enzymaktivität, würde dies nahelegen, dass die HDAC-Enzymaktivität sowohl im Gehirn als auch in peripheren Blutzellen schizophrener Patienten erhöht ist. Oben genannte Studien legen Vermutungen nahe, dass entweder eine gesteigerte HDAC-Expression eine ätiologische Rolle bei der klinischen Psychopathologie schizophrener Patienten

darstellt oder dass umgekehrt eine Erhöhung der HDAC-Expression durch krankheitsbedingten neurodegenerativen Schaden ausgelöst wird. Aktuell werden HDAC Inhibitoren als Add-on-Therapie bei Schizophrenien diskutiert, um die Wirksamkeit etablierter Antipsychotika zu verstärken. Man geht je nach Substanz von Verbesserungen der Positiv- bzw. Negativsymptomatik oder kognitiver Defizite aus (Weïwer et al., 2013). In einer experimentellen Studie an Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine längerfristige Behandlung mit dem atypischen Antipsychotikum Clozapin zu einer Steigerung der HDAC2 Konzentration und einer Abnahme aktiver Synapsen im Frontalkortex führt. Bei HDAC2-knock out Mäusen konnte ein gegenteiliger Effekt nachgewiesen werden. Durch Behandlung mit SAHA, einem Klasse I und II HDAC Inhibitor, konnten zudem positive Effekte auf das Arbeitsgedächtnis von Mäusen gezeigt werden, die zuvor mit MK801, einer dissoziativen Droge, behandelt worden waren. Dies lässt vermuten, dass durch HDAC2 Inhibition sowohl Positivsymptome wie Halluzinationen oder Dissoziationen als auch über eine Steigerung der neuronalen Plastizität kognitive Defizite verbessert werden können (de la Fuente Revenga et al., 2018).

Dies stellte einen Ansatz für zukünftige Untersuchungen dar, um mittels Fall-Kontroll-Studien die Pathomechanismen schizophrener Erkrankungen genauer zu erforschen und somit neue medikamentöse Ansatzpunkte zu finden.

5.1.7 H3K4-Methylase- und H3K4-Demethylase-Aktivität

Bei einem Vergleich innerhalb des Patientenkollektivs von V0 und V3 zeigten sich weder bei der H3K4-Methylase- ($p = .12$) noch der H3K4-Demethylase-Aktivität ($p = .58$) signifikante Unterschiede. Da es sich bei diesen Untersuchungen um Nebenfragestellungen handelte und die Daten retrospektiv und nur für das Patientenkollektiv erhoben wurden, konnte leider kein Gruppenvergleich mit dem Kontrollkollektiv stattfinden.

H3K4-Methylasen und -Demethylasen spielen u.a. durch reversible Methylierung von Neuronen des Präfrontalkortex eine wichtige Rolle bei der Entwicklung neurologischer Entwicklungsstörungen. In einer Studie von Pai et al. (2019) zeigte sich eine Hypomethylierung des IGF2-Gens im frontalen Cortex schizophrener Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden, was durch eine Erhöhung der Konzentration der Tyrosin Hydroxylase zu einer gesteigerten Dopaminsynthese führt. KMT2F (auch SET1/ SETD1A), welches als Risikogen für die Entwicklung von Schizophrenien gilt, kodiert für eine H3K4-Methylase, welche durch Mono-, Di- und Trimethylierung die Aktivität von neuronalen Genen verändert und somit zu Defiziten der Hirnfunktion führen kann (Vallianatos und Iwase, 2015). Dies deckt sich mit einer Studie von Singh et al. (2016), in der Zusammenhänge zwischen Loss-of-Function Mutationen des SETD1A Gens und dem Risiko einer Schizophrenie gefunden werden konnten.

In einer Fall-Kontroll-Studie mit 4 schizophrenen Patienten und 4 gesunden Kontrollprobanden konnten in olfaktorischen Zellen schizophrener Patienten signifikante Unterschiede der H3K4-Trimethylierungsmuster multipler Gene, die in Zusammenhang mit oxidativem Stress und

Zellsignalwegen stehen, nachgewiesen werden (Kano et al., 2013). Huang et al. (2007) fanden in einer post-mortem Studie mit 36 schizophrenen Patienten signifikante Defizite der GAD1 mRNA Expression und GAD1-H3K4me3-Niveaus bei den weiblichen Probandinnen. Bei Probanden mit einer medikamentösen Behandlung mit Clozapin konnte in vorangegangenen Studien eine Erhöhung der GAD1-Expression und GAD1-H3K4-Trimethylierung nachgewiesen werden. In einer Studie an H3K9-Methylierungsniveaus wurden erhöhte H3K9me2-Niveaus spezifischer Gene im Gehirngewebe und Lymphozyten schizophrener Patienten nachgewiesen. Die Ergebnisse letztgenannter Studien unterstützen die Hypothese, dass bei schizophrenen Patienten ein höherer Anteil von inaktivem Chromatin vorliegt (Chase et al., 2013), da eine Methylierung an H3K4 normalerweise die Genexpression steigert, während eine Methylierung an H3K9 und H3K27 in der Regel das Gegenteil bewirkt (Gavin and Sharma, 2010). Dies führt bei Risikogenen zu geringerer Expression und konsekutiv zu psychopathologischen Veränderungen der Patienten, z.B. einer bestehenden Negativsymptomatik oder kognitiven Defiziten (siehe Kapitel 2.2.3).

Die Defizite der H3K4me3-Niveaus bei schizophrenen Patienten könnten entweder durch eine Reduzierung der H3K4-Methylase- oder durch eine Steigerung der H3K4-Demethylase-Aktivität hervorgerufen worden sein, somit kann auch der Effekt des Clozapins entweder eine Steigerung der Methylasen oder Demethylasen sein. Die erhöhten H3K9me2-Niveaus können ebenso entweder durch eine Steigerung der Methylasen oder eine Reduzierung der Demethylasen bedingt sein. Für eine spezifischere Untersuchung dieser Fragestellungen bedarf es zukünftig weiterer Studien.

5.2 Klinischer Verlauf und Korrelationen der Psychopathologie mit epigenetischen Markern

Bei der vorliegenden Untersuchung handelte es sich um eine naturalistische Studie über einen Behandlungszeitraum von 6 Wochen. Innerhalb der Patientengruppe wurde zu definierten Visiterminen (nach 2, 4 und 6 Wochen) die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) erhoben. Dieses klinische Messinstrument wird in eine Globalskala, eine Positivskala und eine Negativskala eingeteilt und ergibt einen Gesamtpunktwert, der mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert (Bunk, 2010).

In der vorliegenden Studie zeigte sich innerhalb der Patientengruppe trotz kontinuierlicher Reduzierung kein signifikanter Unterschied des Gesamtpunktwerts innerhalb des Zeitraumes von Studienbeginn (V0) bis zu Studienende nach 6 Wochen Behandlung (V3), bei geschlechtsspezifischen Betrachtungen ergab sich jedoch eine signifikante Reduzierung des Gesamtpunktwertes innerhalb des männlichen Patientenkollektivs. Bei Betrachtung der Subskalen wiesen nur die Werte der Globalskala zwischen V0 und V3 und die Werte der Positivskala zwischen V1 und V3 signifikante Unterschiede für das gesamte Patientenkollektiv auf. Bei Differenzierung zwischen den Geschlechtern zeigte sich bei der Globalskala nur für männliche Patienten eine signifikante Reduzierung. Die Negativskala wies zwischen V0 und V3

keine signifikanten Unterschiede des Gesamtkollektivs auf, allerdings verschlechterte sich bei weiblichen Patientinnen nach anfänglicher Reduzierung der Negativsymptomatik diese zu V3 wieder auf den Ausgangswert. Bei männlichen Probanden zeigte sich eine kontinuierliche Verbesserung der Negativsymptomatik und eine signifikante Reduzierung von V1 bis V3. Es kann davon ausgegangen werden, dass sich die klinische Symptomatik innerhalb des Zeitraumes von V1 (2 Wochen nach Behandlungsbeginn) bis V3 (nach 6 Wochen Behandlung) dieser Studie deutlich verbesserte, wobei vor allem die Positiv-/Globalsymptomatik rückläufig war, die Negativsymptomatik in geringerem Ausmaß. Männliche Probanden wiesen insgesamt eine höhere Verbesserung der Symptomatik auf als weibliche Probandinnen. Durch zahlreiche Studienabbrecher nahmen noch 26 Patienten an der Visite V3 teil. Innerhalb dieser Stichprobenanzahl ließ sich eine Reduzierung des PANSS-Gesamtwertes bei 73,1% nachweisen, wobei 38,5% der Teilnehmer eine Symptomverbesserung um mindestens 50% zeigten und somit entsprechend der Empfehlungen von Leucht et al. (2007) als Responder definiert wurden. Bereits zuvor wurde in Studien das unterschiedlich gute Ansprechen von Probanden auf antipsychotische Behandlungen und hiermit korrelierende Faktoren wie Geschlecht, Zeitpunkt der Erstdiagnose und Stadium der Erkrankung, Vorbehandlung und neurobiologische Einflussvariablen diskutiert (Lieberman et al., 1996). Weiterführende Studienergebnisse zeigen sich aufgrund von Studiendauern, Probandenzahlen und Unterschieden der untersuchten Messvariablen sehr heterogen, so konnten beispielsweise Usall et al. (2003) im Hinblick auf die Hospitalisierungsrate deutlich bessere Behandlungsergebnisse bei Frauen über einen Behandlungszeitraum von 2 Jahren nachweisen, während Galderisi et al. (2012) keinen geschlechtsspezifischen Unterschied der Symptomremission feststellten. Im Hinblick auf die vorliegenden Studienergebnisse müssten für eine weiterführende Differenzierung verschiedene Einflussfaktoren wie beispielsweise der Untersuchungszeitraum, das Stadium der Erkrankung, die Vorbehandlung, die Behandlungsmedikation während des Studienzeitraumes genauer definiert und untersucht werden.

In Korrelationsuntersuchungen der PANSS-Werte mit den zu untersuchenden epigenetischen Markern zeigten sich zu V0 signifikante Zusammenhänge. Die PANSS-Positivskala korrelierte signifikant negativ mit der prozentualen DNA-Methylierung bzw. der TET-1-Enzymaktivität.

Dies widerspricht Ergebnissen vorheriger Studien. In einer Studie von Auta et al. (2013) mit 28 ambulanten oder stationären Patienten, bei denen nach DSM-IV eine Schizophrenie oder schizoaffektive Störung diagnostiziert worden war, konnte in peripheren Lymphozyten keine signifikante Korrelation zwischen mRNA Niveaus der DNMT1 und TET-1 und der PANSS Skalenwerte festgestellt werden. Auch in einer weiteren Studie mit 53 nicht prämedizierten Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie und 57 gesunden Kontrollprobanden konnten keine signifikanten Korrelationen zwischen spezifischen Proteinkonzentrationen im peripheren Blut, u.a. der DNMT1 und TET-1, und der PANSS bei der Patientengruppe nachgewiesen werden (Li et al., 2018). Zunächst ist anzumerken, dass in den eben genannten Studien die jeweiligen mRNA Expressionsniveaus bzw. Proteinkonzentrationen und nicht die Enzymaktivitäten gemessen wurden. Die insgesamt geringe Korrelation von PANSS-

Skalenwerten und epigenetischer Marker in dieser und anderen Studien kann mit verschiedenen Faktoren zusammenhängen. Es könnte Latenzzeiten zwischen einer klinischen Symptomverbesserung und Veränderungen auf epigenetischer Ebene geben, in diesem Falle wäre eine längere Studiendauer nötig, um Korrelationen zwischen beiden Variablen feststellen zu können. Wie bereits in der Einleitung beschrieben, ist zum aktuellen Zeitpunkt nicht geklärt, inwieweit epigenetische Veränderungen in peripheren Blutzellen mit denen auf neuronaler Ebene korrelieren. Dementsprechend könnten Korrelationen zwischen der klinischen Symptomatik und epigenetischer Marker auf die neuronale Ebene beschränkt sein. Auch wenn zum aktuellen Zeitpunkt eine über Zellteilungen hinweg bestehende Stabilität epigenetischer Veränderungen angenommen wird (siehe Kapitel 2.2.2), könnte ein höherer Zellumsatz peripherer Blutzellen im Vergleich zu neuronalen Zellen zu einer geringeren Konstanz der epigenetischen Faktoren führen.

In einer Studie von Schennach-Wolff et al. (2010) wurden 188 schizophrene Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie untersucht und mittels der PANSS das Outcome bestimmt. Die Responderrate lag bei 63%. Als Responder galten diejenigen Patienten, welche eine 40-prozentige Reduzierung des PANSS-Gesamtpunktwertes innerhalb einer Behandlungsphase von 8 Wochen aufwiesen. Wenn man auch in dieser Studie Responder durch eine 40-prozentige Reduzierung des PANSS-Gesamtpunktwertes definieren würde, läge die Responderrate bei nur 41,8%. Vergleicht man beide Studien, wurden bei Schennach-Wolff et al. (2010) nur Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie untersucht, während in der vorliegenden Studie gesichert bei 62,5% der Patienten mindestens eine Erkrankungsphase vorbestehend war. Eine zunehmende Chronifizierung der Symptomatik bei Patienten mit mehreren Krankheitsphasen könnte die geringere Responderrate in unserer Studie erklären. Wenn Patienten wiederkehrend stationär behandelt werden müssen, kann dies unter anderem an der Schwere der Erkrankung, der Non-Compliance der Patienten oder einer Behandlungsresistenz der Symptomatik liegen. Bei einer frühzeitigen Behandlung einer Erstmanifestation der Erkrankung ist das Outcome meist besser (Perkins et al., 2005). Auch die Behandlungsdauer unterscheidet sich zwischen beiden Studien (6 versus 8 Wochen), im Hinblick auf die Besserungstendenzen der PANSS-Werte innerhalb der 6 Wochen Studiendauer ist bei Verlängerung der Behandlung um weitere 2 Wochen eine weitere Reduzierung des PANSS-Wertes zu erwarten. Auch eine größere Stichprobenanzahl nach drop outs würde die Aussagekraft der Studie weiter erhöhen.

5.3 Korrelation Kindheitstraumata und epigenetische Marker

In diversen Studien wurde versucht, Zusammenhänge zwischen Kindheitstraumata und der Entwicklung einer schizophrenen Symptomatik herzustellen. Diese Traumata können emotionale oder physische Vernachlässigung bzw. Gewalt oder sexueller Missbrauch sein. Die Interpretation der einzelnen Studienergebnisse ist durch die heterogenen Probandengruppen, Dunkelziffern und die verschiedenen Ausmaße der Traumata (Häufigkeit, zeitliche Dauer, Form des Traumas etc.) erschwert. Es existieren

verschiedene biologische Erklärungsmodelle, die ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung psychotischer Symptomatik bei Menschen mit traumatischen Erlebnissen begründen sollen: ein erhöhter Dopaminmetabolismus, Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinde-Achse und eine erhöhte Sensitivität für Stress. Ein ätiologischer Zusammenhang zwischen Kindheitstraumata und der Entwicklung einer Psychose ist weiterhin umstritten (Morgan and Fisher, 2007). In einer Studie von Read et al. (2003) zeigten sich signifikante Zusammenhänge zwischen kindlichen Missbrauchserfahrungen und der Entwicklung von Halluzinationen, betroffene Probanden wiesen fast doppelt so häufig mindestens 2 der 5 Diagnosekriterien (DSM-IV) einer Schizophrenie auf wie Probanden ohne Missbrauchserfahrungen in der Kindheit. In einer Studie von Spataro et al. (2004) konnte hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen sexuellem Missbrauch in der Kindheit und der Ausbildung einer Schizophrenie gefunden werden. In einer retrospektiven Studie von Üçok und Bıkmaz (2007) gaben 52 % der schizophrenen Patienten mindestens eine Form von Kindesmissbrauch und 43 % mindestens eine Form von kindlicher Vernachlässigung an. In einer Fall-Kontroll-Studie von Trotta et al. (2016) mit 285 FES Patienten und 256 gesunden Kontrollprobanden konnten mittels des Childhood Experience of Care and Abuse Questionnaire (CECA.Q) signifikant mehr negative Kindheitserlebnisse innerhalb der Patientengruppe nachgewiesen werden.

Misiak et al. (2015) untersuchten Unterschiede zwischen DNA-Methylierungsmustern von 48 Patienten mit der Erstmanifestation einer Schizophrenie (first episode schizophrenia, FES) im Vergleich zu 48 gesunden Kontrollprobanden unter Einbeziehung von negativen Kindheitserfahrungen. Probanden der Patientengruppe wiesen signifikant höhere Werte im Early Trauma Inventory Self Report in den Teilbereichen allgemeines Trauma, körperliche Bestrafung, emotionaler Missbrauch und im Gesamtwert auf als gesunde Kontrollprobanden. FES Patienten mit traumatischen Kindheitserlebnissen (FES+) zeigten im Vergleich zu FES Patienten ohne traumatische Erlebnisse (FES-) und gesunden Kontrollprobanden signifikant niedrigere Methylierungen in einigen repetitiven DNA-Sequenzen (LINE-1). Zwischen FES- Patienten und gesunden Kontrollprobanden ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der LINE-1-Methylierungsmuster. In anderen repetitiven DNA-Sequenzen (BAGE) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Methylierungsmuster zwischen den drei Gruppen.

Neben Fall-Kontroll-Studien zu Korrelationen traumatischer Kindheitsereignisse und der Entwicklung psychotischer Erkrankungen existieren auch Hinweise auf Zusammenhänge epigenetischer Veränderungen bei gesunden Probanden mit negativen Kindheitserfahrungen. Janusek et al. (2017) stellten bei Untersuchungen an 34 gesunden afroamerikanischen Männern im Alter von 18-25 Jahren signifikante Korrelationen zwischen erlebten Kindheitstraumata und der DNA-Methylierung des IL-6 Promoters fest, je mehr die Probanden Kindheitstraumata ausgesetzt waren, desto geringer war die Methylierung des IL-6 Promoters. Anders Ergebnisse von Houtepen et al. (2016), die bei Blutzelluntersuchungen von gesunden Probanden signifikant positive Korrelationen zwischen erlebten Kindheitstraumata und Methylierungsmustern des KITLG Gens feststellten. In beiden Studien diente der CTQ zur Erhebung von Kindheitstraumata.

Aufgrund der geringen Studienlage sollten in der vorliegenden Arbeit explorativ Korrelationen innerhalb der gesunden Kontrollgruppe zwischen traumatischen Kindheitserlebnissen und den erhobenen epigenetischen Markern untersucht werden. Zur Erfassung der Kindheitstraumata wurde der Childhood Trauma Questionnaire durchgeführt. Während nur einer der Probanden sexuellen Missbrauch in der Vorgeschichte angab, berichteten immerhin 11,4 % von mäßig bis extrem ausgeprägter emotionalen Vernachlässigung, 15,8 % von minimal bis mäßig ausgeprägtem emotionalem Missbrauch und 14,7 % von mäßig bis extrem ausgeprägter körperlichen Vernachlässigung und körperlichem Missbrauch (siehe Tabelle 4.17). In der Korrelationsanalyse zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Skala „emotionaler Missbrauch“ und dem prozentualen Anteil globaler DNA-Hydroxymethylierung. Probanden mit emotionalem Missbrauch in der Kindheit wiesen einen signifikant höheren Anteil an prozentualer globaler DNA-Hydroxymethylierung auf ($r = .25$, $p = .04$), dabei handelte es sich nach Cohen (1992) aber um einen schwachen Effekt. In allen anderen Skalen konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

Wie oben bereits beschrieben existieren aktuell kaum Studien, die differenziert die verschiedenen Kindheitstraumata auf Zusammenhänge mit epigenetischen Markern untersuchen, sodass eine Einordnung in die aktuelle Studienlage zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich ist. Es bedarf weiterführender Untersuchungen in größeren Fallzahlen, zudem sollten ebenso für die Patientengruppe der CTQ erhoben und Fall-Kontroll-Untersuchungen durchgeführt werden.

5.4 Limitierende Faktoren

Wie in jeder anderen Studie gilt es auch hier, einige limitierende Faktoren bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen.

Die Fallzahlen sind mit 110 Patienten und 90 Kontrollprobanden für genetische Untersuchungen als eher gering einzustufen und wurden durch viele drop outs weiter reduziert. Somit konnten bei einigen Untersuchungsergebnissen nur Tendenzen angegeben werden, hier wäre eine größere Stichprobenanzahl nötig gewesen, um aussagekräftigere Ergebnisse zu erzielen. Da es sich um eine retrospektive Studie handelt, war eine Erhöhung der Probandenanzahl leider nicht möglich. Im Hinblick auf die Patientengruppe könnte es bei einer Folgestudie sinnvoll sein, eine genauere Differenzierung in Krankheitsstadium und medikamentöse Interventionen durchzuführen. Unterschiede innerhalb des Patientenkollektivs zwischen Patienten mit und ohne Prämedikation ließen sich aufgrund fehlender anamnestischer Angaben und dadurch geringer Stichprobenzahlen nicht aussagekräftig aufzeigen, zudem waren die Patienten nicht in klar definierte Medikationsgruppen eingeteilt, sondern unter naturalistischen Bedingungen behandelt worden. Somit ließen sich keine Korrelationen zwischen Veränderungen der epigenetischen Marker während der 6-wöchigen Behandlung und der Medikation mit bestimmten Psychopharmaka untersuchen. Auch ist eine Studiendauer von 6 Wochen als relativ

kurz einzustufen, eventuell hätte eine längere Studiendauer vor allem im Hinblick auf Veränderungen der epigenetischen Marker innerhalb der Patientengruppe weitere Ergebnisse gebracht.

In der vorliegenden Arbeit wurden mononukleäre periphere Blutzellen (PBMC) verwendet, da diese im Gegensatz zu Gehirngewebeproben bei lebenden Probanden frei zugänglich sind. Es stellt sich aber die Frage, ob epigenetische Veränderungen parallel in peripheren Blutzellen und Gehirnzellen stattfinden und ob man durch Untersuchungen an peripheren Blutzellen auf Veränderungen auf neuronaler Ebene schließen kann. In mehreren Studien wurden Korrelationen zwischen Methylierungsmustern von spezifischen Genregionen und Änderungen der DNMT1 und TET-1 in peripheren Blutzellen und dem Gehirngewebe psychiatrischer Patienten gefunden (Auta et al, 2013). Andererseits gab es auch Hinweise auf Aktivitätsunterschiede der DNMT1 zwischen verschiedenen Hirnregionen, was auf eine Zell- und Gewebeabhängigkeit epigenetischer Veränderungen hindeuten könnte (Dong et al., 2014). Auch in einer Studie von Walton et al. (2016) konnte nur bei 7,9 % spezifischer CpG-Inseln eine signifikante Übereinstimmung der DNA-Methylierungsmuster zwischen peripheren Blutzellen und Gehirnzellen gefunden werden. Dagegen zeigte sich in Untersuchungen von Horvath et al. (2012) im Vergleich von CpG-Methylierungsmustern zwischen peripheren Blutzellen und Gehirnzellen eine sehr hohe Korrelation ($r = 0.9$). Dies deckt sich mit einer aktuellen Studie von Braun et al. (2019), in der bei 27 Patienten mit Epilepsie Methylierungsmuster von Hirngewebe im Vergleich zu Blutzellen, Speichelproben und Wangenabstrichen. Es zeigten sich auch hier sehr deutliche Korrelationen der Methylierungsmuster von Hirngewebe und Blutzellen ($r = 0.86$), Mundschleimhautzellen ($r = 0.85$) und Speichelproben ($r = 0.90$). Diese sehr heterogene Studienlage sollte bei Rückschlüssen epigenetischer Veränderungen peripherer Gewebe auf diejenigen neuronaler Ebene berücksichtigt werden.

Bei Selbstausfüllen von Fragebögen wie beispielsweise des CTQ und der Erhebung klinischer Befunde anhand der PANSS besteht immer die Gefahr eines Under-Reportings von Seiten der Probanden, d.h. Studienteilnehmer könnten eine geringere Anzahl an Kindheitstraumata oder Symptome angegeben haben, als tatsächlich vorliegen.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine explorative Studie mit dem Ziel, eine Übersicht über Zusammenhänge zwischen epigenetischen Markern und schizophrenen Erkrankungen zu gewinnen. Die hierbei erlangten Ergebnisse stellen trotz der oben benannten limitierenden Faktoren einen guten Ansatzpunkt für weitere Studien dar, um perspektivisch eine Verbesserung der Diagnostik und Behandlung von schizophrenen Erkrankungen zu erreichen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Schizophrenie ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung mit einer Lebenszeitprävalenz von ungefähr 1 %, bei deren Entstehung sowohl genetische als auch neuroepigenetische Faktoren eine Rolle spielen (Möller, 2015; Fullard et al., 2016). Es existieren verschiedene, miteinander interagierende epigenetische Mechanismen, die die Aktivitäten bestimmter Gene (Jaenisch and Bird, 2003, Portela and Esteller, 2010) und dadurch die Entstehung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen beeinflussen können (Peedicayil, 2011). Epigenetische Prozesse beziehen Stressregulationsmechanismen mit ein, es existieren beispielsweise zunehmend Hinweise, dass Kindheitstraumata eine Rolle bei der Entwicklung psychotischer Erkrankungen spielen können (Read et al., 2009).

Ziel der vorliegenden Studie war ein Gruppenvergleich zwischen einem gesunden Kontroll- und einem schizophrenen Patientenkollektiv im Hinblick auf folgende epigenetische Faktoren: der globalen DNA-Methylierung, der globalen DNA-Hydroxymethylierung und der Enzymaktivitäten der DNMT und TET-1-Hydroxylase. Als Nebenfragestellungen wurden innerhalb der schizophrenen Patientengruppe zudem Verlaufsuntersuchungen oben genannter epigenetischer Faktoren und der Enzymaktivitäten der HAT, der HDAC, der H3K4-Methylasen und H3K4-Demethylasen innerhalb eines 6-wöchigen Zeitraums durchgeführt. Des Weiteren wurden gruppenspezifisch Korrelationen einiger der oben genannten epigenetischen Faktoren und psychopathologischer Symptome (Patientenkollektiv) bzw. traumatischer Erfahrungen in der Kindheit (Kontrollkollektiv) analysiert. Hierfür wurden in die Studie 110 Patienten mit der Diagnose einer Schizophrenie und 90 gesunde Kontrollprobanden verschiedener sozialer Schichten eingeschlossen. Als Untersuchungsmaterial dienten mononukleäre periphere Blutzellen (PBMC).

In der Untersuchung zeigten sich zwischen den Studiengruppen signifikante Unterschiede in der globalen DNA-Methylierung und TET-1-Enzymaktivität zum Zeitpunkt V0 (Baseline). Die Patientengruppe wies einen höheren prozentualen Anteil globaler DNA-Methylierung und eine gesteigerte TET-1-Enzymaktivität im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv auf. Bei Untersuchungen der prozentualen globalen DNA-Hydroxymethylierung und DNMT-Enzymaktivität konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen gefunden werden. Bei der Verlaufskontrolle innerhalb des Patientenkollektivs zwischen Studienbeginn (V0) und Studienende nach 6 Wochen (V3) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der untersuchten epigenetischen Marker.

Es ließ sich zudem bei 73,1 % der Patientengruppe eine Reduzierung des PANSS-Gesamtwertes nachweisen, wobei sich die Symptomatik bei 38,5% der Teilnehmer um mindestens 50 % verbesserte. Der PANSS-Gesamtwert wies nur bei geschlechtsspezifischen Untersuchungen der männlichen Probandengruppe eine signifikante Reduzierung auf, bei Betrachtung des gesamten Patientenkollektivs kam es zwar zu einer kontinuierlichen Reduktion, die jedoch nicht signifikant war. Die Globalskala reduzierte sich zwischen V0 (Baseline) und V3 (nach 6 Wochen) und die Positivskala zwischen V1 (nach 2 Wochen) und V3 (nach 6 Wochen) signifikant für das gesamte Patientenkollektiv, während die

Negativskala zwar rückläufig, aber nicht signifikant reduziert war. Bei männlichen Patienten zeigte sich insgesamt eine deutlichere Besserung der PANSS-Skalen. Die PANSS-Positivskala korrelierte signifikant negativ mit der prozentualen globalen DNA-Methylierung bzw. der TET-1-Enzymaktivität. 11,4 % der Probanden des Kontrollkollektivs berichteten von mäßig bis extrem ausgeprägter emotionaler Vernachlässigung, 15,8 % von minimal bis mäßig ausgeprägtem emotionalem Missbrauch und 14,7 % von mäßig bis extrem ausgeprägter körperlichen Vernachlässigung und körperlichem Missbrauch. Bei der Auswertung der Daten konnte eine positive Korrelation zwischen der Skala „emotionaler Missbrauch“ und dem prozentualen Anteil globaler DNA-Hydroxymethylierung festgestellt werden, das bedeutet Probanden mit emotionalen Missbrauchserfahrungen in der Kindheit wiesen einen signifikant höheren Anteil an prozentualer globaler DNA-Hydroxymethylierung auf, auch wenn es sich dabei handelte nach Cohen (1992) um einen schwachen Effekt handelt. In allen anderen Skalen konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Hauptuntersuchungen zeigen, ähnlich wie auch einige andere Studien, signifikante Unterschiede bestimmter epigenetischer Marker, in diesem Fall der globalen DNA-Methylierung und TET-1-Enzymaktivität, zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollprobanden. Diese Ergebnisse dienen einem besseren Verständnis der Ätiologie und Pathogenese schizophrener Erkrankungen und stellen einen guten Ansatz für Folgestudien dar, um einen Fortschritt in Bereichen der Diagnostik, Prävention und medikamentösen Behandlung erreichen zu können.

7 QUELLENVERZEICHNIS

Aberg, Karolina A.; McClay, Joseph L.; Nerella, Srilaxmi; Clark, Shaunna; Kumar, Gaurav; Chen, Wenan; Khachane, Amit N.; Xie, Linying; Hudson, Alexandra; Gao, Guimin; Harada, Aki; Hultman, Christina M.; Sullivan, Patrick F.; Magnusson, Patrik K. E.; van den Oord, Edwin J. C. G. (2014): Methylome-wide association study of schizophrenia: identifying blood biomarker signatures of environmental insults. In: *JAMA psychiatry*, 71(3): 255-264

American Psychiatric Association: Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders, Fifth Edition, Arlington, VA, American Psychiatric Association 2013

Angelucci, F.; Brene, S.; Mathe, A.A. (2015): BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. In: *Molecular Psychiatry*; 10(4), 345–352

Auta, J; Smith, R.C.; Dong, E.; Tueting, P.; Sershen, H.; Boules, S.; Lajtha, A.; Davis, J.; Guidotti, A. (2013): DNA-Methylation Gene Network Dysregulation in Peripheral Blood Lymphocytes of Schizophrenia Patients. In: *Schizophrenia Research*; 150(1): 312–318

Benes, Francine M.; Lim, Benjamin; Matzilevich, David; Walsh, John P.; Subburaju, Sivan; Minns, Martin (2007): Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 104(24): 10164–10169

Brath, Klaus (2007): Eugen Bleuler prägte den Begriff Schizophrenie. In: *Ärzte Zeitung*. Online verfügbar unter: <http://www.aerztezeitung.de/panorama/article/447813/eugen-bleuler-praegte-begriff-schizophrenie.html> (abgerufen am 10.01.2019)

Braun, Patricia R.; Han, Shizhong; Hing, Benjamin; Nagahama, Yasunori; Gaul, Lindsey N.; Heinzman, Jonathan T.; Grossbach, Andrew J.; Close, Liesl; Dlouhy, Brian J.; HowardIII, Matthew A.; Kawasaki, Hiroto; Potash, James B.; Shinozaki, Gen (2019): Genome-wide DNA methylation comparison between live human brain and peripheral tissues within individuals. In: *Translational psychiatry*, 9(1): 1-10

Bunk, D. (2010): PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale. In: Barkmann, Claus; Schulte-Markwort, Michael; Brähler, Elmar (Hrsg.) *Klinisch-psychiatrische Ratingskalen für das Kindes- und Jugendalter*. Göttingen: Hogrefe

Chase, Kayla A.; Gavin, David P.; Guidotti, Alessandro; Sharma, Rajiv P. (2013): Histone Methylation at H3K9; Evidence for a Restrictive Epigenome in Schizophrenia. In: *Schizophrenia Research*; 149(0): 15–20

De la Fuente Revenga, Mario; Ibi, Daisuke; Saunders, Justin M.; Cuddy, Travis; Ijaz, Maryum K.; Toneatti, Rudy; Kuritac, Mitsumasa; Hollowayc, Terrell; Shene, Li; Setoh, Jeremy; Dozmorovb, Mikhail G.; González-Maeso, Javier (2018): HDAC2-dependent antipsychotic-like effects of chronic treatment with the HDAC inhibitor SAHA in mice. In: *Neuroscience*, 388: 102-117

- Dempster, Emma L.; Pidsley, Ruth; Schalkwyk, Leonard C.; Owens, Sheena; Georgiades, Anna; Kane, Fergus; Kalidindi, Sridevi; Picchioni, Marco; Kravariti, Eugenia; Touloupoulou, Timothea; Murray, Robin M. ; Mill, Jonathan (2011): Disease-associated epigenetic changes in monozygotic twins discordant for schizophrenia and bipolar disorder. In: *Human molecular genetics*; 20(24): 4786-4796
- Dempster, Emma; Viana, Joana; Pidsley, Ruth; Mill, Jonathan (2013): Epigenetic Studies of Schizophrenia: Progress, Premedicaments, and Promises for the Future. In: *Schizophrenia Bulletin*; 39(1): 11-16
- De Ruijter, Annemieke J.M.; Van Gennip, Albert H.; Caron, Huib N.; Kemp, Stephan; Van Kuilenburg, André B.P. (2003): Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical. In: *Biochemical Journal*; 370(3): 737-749
- Dong, E.; Gavin, D. P.; Chen, Y.; Davis, J. (2012): Upregulation of TET1 and downregulation of APOBEC3A and APOBEC3C in the parietal cortex of psychotic patients. In: *Translational psychiatry*; 2(9): e159-e159
- Dong, E.; Ruzicka, W. B. ; Grayson, D.R.; Guidotti, A. (2015): DNA-methyltransferase1 (DNMT1) binding to CpG rich GABAergic and BDNF promoters is increased in the brain of schizophrenia and bipolar disorder patients. In: *Schizophrenia Research*; 167(0): 35–41
- Dilling, H.; Mombour, W.; Schmidt, M.H. (Hrsg.) (2011): Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD Kapitel V (F). Klinisch diagnostische Leitlinien. Bern, Huber
- Ecsedi, Szilvia; Rodríguez-Aguilera, Jesús R.; Hernandez-Vargas, Héctor (2018): 5-Hydroxymethylcytosine (5hmC), or how to identify your favorite cell. In: *Epigenomes*, 2(1): 3
- Evensen, Stig; Wisloff, Torbjorn; Lystad, June U.; Bull, Helen; Ueland, Torill; Falkum, Erik (2016): Prevalence, Employment Rate and Cost of Schizophrenia in a High-Income Welfare Society: A Population-Based Study Using Comprehensive Health and Welfare Registers. In: *Schizophrenia Bulletin*; 42(2): 476-483
- Fullard, John F.; Halene, Tobias B.; Giambartolomei, Claudia; Haroutunian, Vahram; Akbarian, Schahram; Roussos, Panos (2016): Understanding the genetic liability to schizophrenia through the neuroepigenome. In: *Schizophrenia Research*; 177(1-3): 115-124
- Gaebel, Wolfgang; Wölwer, Wolfgang (2010): Schizophrenie. In: *Gesundheitsberichterstattung des Bundes*, Heft 50, Berlin, Robert Koch – Institut. Online verfügbar unter: https://www.gbe-bund.de/gbe10/abrechnung.prc_abr_test_logon?p_aid=2855258&p_uid=gast&p_sprache=D&p_knoten=FID&p_suchstring=13064#fid13056 (abgerufen am 30.11.2014)
- Gaebel, W.; Falkai, P. (2013): Schizophrenie, Schizotyp und wahnhafte Störungen. In: Gastpar, Markus T.; Kasper, Siegfried; Linden, Michael (Hrsg.) *Psychiatrie und Psychotherapie*, Wien, Springer

- Galderisi, S.; Bucci, P.; Üçok, A.; Peuskens, J. (2012): No gender differences in social outcome in patients suffering from schizophrenia. In: *European Psychiatry*; 27(6): 406-408
- Gardiner-Garden, M.; Frommer, M. (1987): CpG islands in vertebrate genomes. In: *Journal of molecular biology*; 196(2): 261-282
- Gavin, David P.; Kartan, Saritha; Chase, Kayla; Jayaraman, Sundararajan; Sharma, Rajiv P. (2009): Histone deacetylase inhibitors and candidate gene expression: An in vivo and in vitro approach to studying chromatin remodeling in a clinical population. In: *Journal of psychiatric research*; 43(9): 870-876
- Gavin, David P.; Sharma, Rajiv P. (2010): Histone modifications, DNA methylation, and Schizophrenia. In: *Neuroscience and Biobehavior Reviews*; 34(6): 882–888
- Gu, Bingnan; Lee, Min Gyu (2013): Histone H3 lysine 4 methyltransferases and demethylases in self-renewal and differentiation of stem cells. In: *Cell & Bioscience*; 3(1): 1-14
- Guidotti, A.; Auta, J.; Davis, J.M.; Dong, E.; Gavin, D.P.; Grayson, D.R.; Sharma, R.P.; Smith, R.C.; Tueting, P.; Zhubi, A. (2014): Toward the Identification of Peripheral Epigenetic Biomarkers of Schizophrenia. In: *Journal of Neurogenetics*, 28(0): 41–52
- Guo, Junjie U.; Su, Yijing; Shin, Joo Heon; Shin, Jaehoon; Li, Hongda; Xie, Bin; Zhong, Chun; Hu, Shaohui; Le, Thuc; Fan, Guoping; Zhu, Heng; Chang, Qiang; Gao, Yuan; Ming, Guo-li; Song, Hongjun (2014): Distribution, recognition and regulation of non-CpG methylation in the adult mammalian brain. *Nature Neuroscience*; 17(2): 215
- Häfner, Heinz (2001): *Das Rätsel Schizophrenie – Eine Krankheit wird entschlüsselt*. München, Beck
- Häuser, W.; Schmutzer, G.; Brähler, E.; Glaesmer, H. (2011): Misshandlungen in Kindheit und Jugend. Ergebnisse einer Umfrage in einer repräsentativen Umfrage der deutschen Bevölkerung. In: *Dtsch Arztebl*; 108(17): 287-94
- Hasan, Alkomiet; Mitchell, Amanda; Schneider, Anja; Halene, Tobias; Akbarian, Schahram (2013): Epigenetic dysregulation in schizophrenia: molecular and clinical aspects of histone deacetylase inhibitors. In: *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*; 263(4): 273-284
- Hasan, Alkomiet; Falkai, Peter; Scherk, Harald (2014): Schizophrenie, schizotype und wahnhafte Störungen. In: Kasper, Siegfried; Volz, Hans-Peter (Hrsg.) *Psychiatrie und Psychotherapie compact: Das gesamte Facharztwissen*, Stuttgart, Thieme
- Horvath, Steve; Zhang, Yafeng; Langfelder, Peter; Kahn, René S.; Boks, Marco PM.; van Eijk, Kristel; van den Berg, Leonard H; Ophoff, Roel A. (2012): Aging effects on DNA methylation modules in human brain and blood tissue. In: *Genome biology*; 13(10): R97
- Houtepen, Lotte C.; Vinkers, Christiaan H.; Carrillo-Roa, Tania; Hiemstra, Marieke; Van Lier, Pol A.; Meeus, Wim; Branje, Susan; Heim, Christine M.; Nemeroff, Charles B.; Mill, Jonathan; Schalkwyk,

- Leonard C.; Creyghton, Menno P.; Kahn, René S.; Joëls, Marian; Binder, Elisabeth B.; Boks, Marco P.M. (2016): Genome-wide DNA methylation levels and altered cortisol stress reactivity following childhood trauma in humans. In: *Nature communications*, 7(1): 1-10
- Huang, Hsien-Sung; Matevossian, Anouch; Whittle, Catheryne; Kim, Se Young; Schumacher, Armin; Baker, Stephen P.; Akbarian, Schahram (2007): Prefrontal Dysfunction in Schizophrenia Involves Mixed-Lineage Leukemia 1-Regulated Histone Methylation at GABAergic Gene Promoters. In: *The Journal of Neuroscience*; 27(42): 11254 –11262
- Jaenisch, Rudolf; Bird, Adrian (2003): Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. In: *Nature Genetics*; 33(3): 245-254
- Jaffe, Andrew E.; Gao, Yuan; Deep-Soboslay, Amy; Tao, Ran; Hyde, Thomas M.; Weinberger, Daniel R.; Kleinman, Joel E. (2016): Mapping DNA methylation across development, genotype, and schizophrenia in the human frontal cortex. In: *Nature Neuroscience*; 19(1): 40–47
- Janning, Wilfried; Knust, Elisabeth (2008): *Genetik: Allgemeine Genetik - Molekulare Genetik - Entwicklungsgenetik*, Stuttgart, Thieme
- Janusek, Linda W.; Tell, Dina; Gaylord-Harden, Noni; Mathews, Herbert L. (2017): Relationship of childhood adversity and neighborhood violence to a proinflammatory phenotype in emerging adult African American men: An epigenetic link. In: *Brain, behavior, and immunity*, 60: 126-135
- Jiang, Tingyun; Zong, Lu; Zhou, Lin; Hou, Yu; Zhang, Lulu; Zheng, Xianzhen; Han, Hongying; Li, Shufen; Zhang, Wenwei; Zhang, Jian; Deng, Cong; Jia, Yanbin; Zhao, Cunyou (2017): Variation in global DNA hydroxymethylation with age associated with schizophrenia. In: *Psychiatry research*; 257: 497-500
- Kano, S.; Colantuoni, C.; Han, F.; Zhou, Z.; Yuan, Q.; Wilson, A.; Takayanagi, Y.; Lee, Y.; Rapoport, J.; Eaton, W.; Cascella, N.; Ji, H.; Goldman, D; Sawa, A. (2013): Genome-wide profiling of multiple histone methylations in olfactory cells: further implications for cellular susceptibility to oxidative stress in schizophrenia. In: *Molecular psychiatry*; 18(7): 740
- Kinoshita, Makoto; Numata, Shusuke; Tajima, Atsushi; Shimodera, Shinji; Ono, Shinji; Imamura, Akira; Iga, Jun-Ichi; Watanabe, Shinya; Kikuchi, Kumiko; Kubo, Hiroko; Nakataki, Masahito; Sumitani, Satsuki; Imoto, Issei; Okazaki, Yuji; Ohmori, Tetsuro (2013): DNA methylation signatures of peripheral leukocytes in schizophrenia. In: *Neuromolecular medicine*; 15(1): 95-101
- Knippers, Rolf (2006): *Molekulare Genetik*, Stuttgart, Thieme
- Krischer, Maya K.; Sevecke, Kathrin (2011): CTQ. In: Barkmann, Claus; Schulte-Markwort, Michael; Brähler, Elmar (Hrsg.) *Klinisch-psychiatrische Ratingskalen für das Kindes- und Jugendalter*, Göttingen, Hogrefe

- Leucht, Stefan; Davis, John M.; Engel, Rolf R.; Kane, John M.; Wagenpfeil, Stefan (2007): Defining 'response' in antipsychotic drug trials: recommendations for the use of scale-derived cutoffs. In: *Neuropsychopharmacology*; 32(9): 1903-1910
- Leucht, Stefan; Kissling, Werner; Davis, John M. (2010): The PANSS should be rescaled. In: *Schizophrenia bulletin*; 36(3): 461-462
- Li, Cunyan; Tao, Huai; Yang, X., Zhang, Xiudeng; Liu, Yong; Tang, Yamei; Tang, Aiguo (2018): Assessment of a combination of Serum Proteins as potential biomarkers to clinically predict Schizophrenia. In: *International Journal of Medical Sciences*; 15(9): 900-906
- Lieberman, J. A.; Alvir, J. M.; Koreen, A.; Geisler, S.; Chakos, M.; Sheitman, B.; Woerner, M. (1996): Psychobiologic correlates of treatment response in schizophrenia. In: *Neuropsychopharmacology*; 14(1): 13-21
- Melas, Philippe A.; Rogdaki, Maria; Ösby, Urban; Schalling, Martin; Lavebratt, Catharina; Ekström, Tomas J. (2012): Epigenetic aberrations in leukocytes of patients with schizophrenia: association of global DNA methylation with antipsychotic drug treatment and disease onset. In: *The FASEB Journal*; 26(6): 2712-2718
- Misiak, Błażej; Szmida, Elżbieta; Karpiński, Paweł; Loska, Olga; Sasiadek, Maria M.; Frydecka, Dorota (2015): Lower LINE-1 methylation in first-episode schizophrenia patients with the history of childhood trauma. In: *Epigenomics*, 7(8): 1275-1285
- Möller, Hans-Jürgen (2013): Schizophrene Psychosen. In: Möller, Hans-Jürgen; Laux, Gerd; Deister, Arno (Hrsg.) *Duale Reihe Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie*, Stuttgart, Thieme
- Möller, Hans-Jürgen (2015): Schizophrene Psychosen. In: Möller, Hans-Jürgen; Laux, Gerd; Deister, Arno (Hrsg.) *Duale Reihe Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie*, Stuttgart, Thieme
- Montano, Carolina; Taub, Margaret A.; Jaffe, Andrew; Briem, Eiríkur; Feinberg, Jason I.; Trygvadottir, Rakel; Idrizi, Adrian; Runarsson, Arni; Berndsen, Birna; Gur, Ruben C.; Moore, Tyler M.; Perry, Rodney T.; Fugman, Doug; Sabunciyan, Sarven; Yolken, Robert H.; Hyde, Thomas M.; Kleinman, Joel E.; Sobell, Janet L.; Pato, Carlos N.; Pato, Michele T.; Go, Rodney C.; Nimgaonkar, Vishwajit; Weinberger, Daniel R.; Braff, David; Gur, Raquel E.; Fallin, Margaret D.; Feinberg, Andrew P. (2016): Association of DNA methylation differences with schizophrenia in an epigenome-wide association study. In: *JAMA psychiatry*, 73(5): 506-514
- Morgan, Craig; Fisher, Helen (2007): Environmental Factors in Schizophrenia: Childhood Trauma - A Critical Review. In: *Schizophrenia Bulletin*; 33(1): 3-10
- Nestor, Colm E.; Ottaviano, Raffaele; Reddington, James; Sproul, Duncan; Reinhardt, Diana; Dunican, Donncha; Katz, Elad; Dixon, J. Michael; Harrison, David J.; Meehan, Richard R. (2012): Tissue type is

a major modifier of the 5-hydroxymethylcytosine content of human genes. In: *Genome research*; 22(3): 467-477

Nishioka, Masaki; Bundo, Miki; Koike, Shinsuke; Takizawa, Ryu; Kakiuchi, Chihiro; Araki, Tsuyoshi; Kasai, Kiyoto; Iwamoto, Kazuya (2013): Comprehensive DNA methylation analysis of peripheral blood cells derived from patients with first-episode schizophrenia. In: *Journal of human genetics*; 58(2): 91-97

Pai, Shraddha; Li, Peipei; Killinger, Bryan; Marshall, Lee; Jia, Peixin; Liao, Ji; Petronis, Arturas; Szabó, Piroska E.; Labrie, Viviane (2019): Differential methylation of enhancer at IGF2 is associated with abnormal dopamine synthesis in major psychosis. In: *Nature communications*; 10(1): 1-12

Paulzen, Michael; Schneider, Frank (2011): Leitsymptome. In: Schneider, Frank (Hrsg.) *Facharztwissen Psychiatrie und Psychotherapie*, Berlin, Springer

Peedicayil, J. (2008): Epigenetic biomarkers in psychiatric disorders. In: *British Journal of Pharmacology*; 155(6): 795-796

Peedicayil, Jacob (2011): Epigenetic management of major psychosis. In: *Clinical Epigenetics*; 2(2): 249–256

Perkins, Diana O.; Gu, Hongbin; Boteva, Kalina; Lieberman, Jeffrey A. (2005): Relationship between duration of untreated psychosis and outcome in first-episode schizophrenia: a critical review and meta-analysis. In: *American Journal of Psychiatry*; 162(10): 1785-1804

Pfeifer, Gerd P.; Kadam, Swati; Jin, Seung-Gi (2013): 5-hydroxymethylcytosine and its potential roles in development and cancer. In: *Epigenetics & chromatin*, 6(1): 10

Pipam, Wolfgang (2006): Das Stress-Vulnerabilitäts-Modell nach J.Zubin. In: Beiglböck, Wolfgang; Feselmayer, Senta; Honemann, Elisabeth (Hrsg.) *Handbuch der klinisch-psychologischen Behandlung*, Wien, Springer

Portela, Anna; Esteller, Manel (2010): Epigenetic modifications and human disease. In: *Nature Biotechnology*; 28(10): 1057

Read, John; Bentall, Richard P.; Fosse, Roar (2009): Time to abandon the bio-bio-bio model of psychosis: exploring the epigenetic and psychological mechanisms by which adverse life events lead to psychotic symptoms. In: *Epidemiology and Psychiatric Sciences*; 18(4): 299-310

Read, John ; Agar, Kirsty; Argyle, Nick; Aderhold, Volkmar (2003): Sexual and physical abuse during childhood and adulthood as predictors of hallucinations, delusions and thought disorder. In: *Psychology and Psychotherapy: Theory, Research and Practice*; 76(1): 1– 22

Reischies, Friedel M. (2007): *Psychopathologie - Merkmale psychischer Krankheitsbilder und klinische Neurowissenschaft*, Heidelberg, Springer

- Rosenberg, Stanley D.; Lu, Weili; Mueser, Kim T.; Jankowski, Mary Kay; Cournos, Francine (2007): Correlates of Adverse Childhood Events Among Adults With Schizophrenia Spectrum Disorders. In: *Psychiatric Services*, 58(2): 245-253
- Rye, Peter T.; Frick, Lauren E.; Ozbal, Can C.; Lamarr, William A. (2011): Advances in label-free screening approaches for studying histone acetyltransferases. In: *Journal of biomolecular screening*, 16(10): 1186-1195
- Samec, Marek; Liskova, Alena; Koklesova, Lenka; Mestanova, Veronika; Franekova, M., Kassayova, Maria; Bojkova, Bianka; Uramova, Sona; , Zubor, Pavol; Janikova, Katarina; Danko, Jan; Samuel, Samson M.; Büsselberg, Dietrich; Kubatka, Peter (2019): Fluctuations of Histone Chemical Modifications in Breast, Prostate, and Colorectal Cancer: An Implication of Phytochemicals as Defenders of Chromatin Equilibrium. In: *Biomolecules*, 9(12): 829
- Sass, Henning; Wittchen, Hans U.; Zaudig, Michael; Houben, Isabel (2003): Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV-TR, Göttingen, Hogrefe
- Schennach-Wolff, R.; Seemüller, F. H.; Mayr, A.; Maier, W.; Klingberg, S.; Heuser, I.; Klosterkötter, J.; Gastpar, M.; Häfner, H.; Sauer, H.; Schneider, F.; Gaebel, W.; Jäger, M.; Möller, H.-J.; Riedel, M. (2010): An early improvement threshold to predict response and remission in first-episode schizophrenia. In: *The British Journal of Psychiatry*; 196(6): 460-466
- Sharma, Rajiv P.; Grayson, Dennis R.; Gavin, David P. (2008): Histone Deacetylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of Schizophrenia subjects; analysis of the National Brain Databank microarray collection. In: *Schizophrenia Research*; 98(1-3): 111-117
- Shaver, Phillip R.; Brennan, Kelly A. (2013): Measures of Depression and Loneliness. In: Robinson, John P.; Shaver, Phillip R.; Wrightsman, Lawrence S. (Hrsg.) *Measures of Personality and Social Psychological Attitudes*, San Diego, Academic Press
- Shorter, Kimberly R.; Miller, Brooke H. (2015): Epigenetic Mechanisms in Schizophrenia. In: *Progress in Biophysics and Molecular Biology*; 118(0): 1-7
- Singh, T.; Kurki, M. I.; Curtis, D.; Purcell, S. M.; Crooks, L.; McRae, J.; ... & Pietiläinen, O. (2016): Rare loss-of-function variants in SETD1A are associated with schizophrenia and developmental disorders. In: *Nature neuroscience*, 19(4): 571
- Spataro, Josie; Mullen, Paul E.; Burgess, Philip M.; Wells, David L.; Moss, Simon A. (2004): Impact of child sexual abuse on mental health: prospective study in males and females. In: *British Journal of Psychiatry*; 184(5): 416-421
- Takai, Daiya; Jones, Peter A. (2002): Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. In: *Proceedings of the national academy of sciences*; 99(6): 3740-3745

- Trotta, Antonella; Iyegbe, Conrad; Di Forti, Marta; Sham, Pak C.; Campbell, Desmond D.; Cherny, Stacey S.; Mondelli, Valeria; Aitchison, Katherine J.; Murray, Robin M.; Vassos, Evangelos; Fisher, Helen L. (2016): Interplay between schizophrenia polygenic risk score and childhood adversity in first-presentation psychotic disorder: a pilot study. In: *PloS one*, 11(9): e0163319
- Üçok, A.; Bıkmaz, S. (2007): The effects of childhood trauma in patients with first-episode schizophrenia. In: *Acta Psychiatrica Scandinavica*; 116(5): 371–377
- Usall, J.; Ochoa, S.; Araya, S.; Márquez, M. (2003): Gender differences and outcome in schizophrenia: a 2-year follow-up study in a large community sample. In: *European Psychiatry*; 18(6): 282-284
- Vallianatos, Christina N.; Iwase, Shigeki (2015): Disrupted intricacy of histone H3K4 methylation in neurodevelopmental disorders. In: *Epigenomics*, 7(3): 503-519
- Wang, Zhibin; Zang, Chongzhi; Cui, Kairong; Schones, Dustin E.; Barski, Artem; Peng, Weiqun; Zhao, Keji (2009): Genome-wide Mapping of HATs and HDACs Reveals Distinct Functions^[1]_{SEP} in Active and Inactive Genes. In: *Cell*; 138(5): 1019–1031
- Webster, M.J.; Knable, M.B.; O’Grady, J.; Orthmann, J.; Weickert, C.S. (2002): Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. In: *Molecular Psychiatry*; 7(9): 985–994
- Weiskirchen, Ralf (2013): Genetik. In: Gressner, Axel M.; Arndt, Torsten (Hrsg.) *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, Berlin, Springer
- Weïwer, Michel; Lewis, Michael C.; Wagner, Florence F.; Holson, Edward B. (2013): Therapeutic potential of isoform selective HDAC inhibitors for the treatment of schizophrenia. In: *Future medicinal chemistry*; 5(13): 1491–1508
- Zhubi, A.; Veldic, M.; Puri, N. V.; Kadriu, B.; Caruncho, H.; Loza, I.; Sershen, H.; Lajtha, A.; Smith, R.; Guidotti, A.; Davis, J.; Costa, E. (2009): An upregulation of DNA-methyltransferase 1 and 3a expressed in telencephalic GABAergic neurons of schizophrenia patients is also detected in peripheral blood lymphocytes. In: *Schizophrenia research*; 111(1-3): 115-122
- Zong, Lu; Zhou, Lin; Hou, Yu Hou; Zhang, Lulu; Jiang, Wei; Zhang, Wenwei; Wang, Lijuan; Luo, Xia; Wang, Shiqing; Deng, Cong; Peng, Zhizhen; Li, Shufen; Hu, Jiming; Zhao, Hu; Zhao, Cunyou (2017): Genetic and epigenetic regulation on the transcription of GABRB2: genotype-dependent hydroxymethylation and methylation alterations in schizophrenia. In: *Journal of psychiatric research*; 88: 9-17

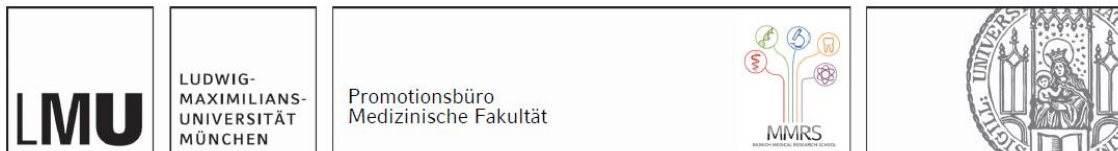
8 DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Dr. med. Richard Musil für die Ermöglichung dieser Dissertation und Herrn PD Dr. Peter Zill für die kontinuierliche und hilfreiche Unterstützung bei ihrer Durchführung. Danke für das stets offene Ohr und die Ruhe und Geduld während der gesamten Arbeit.

Mein Dank gilt zudem allen Mitarbeitern der Abteilung für Psychiatrische Genetik und Neurochemie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie allen Probanden, die durch ihre Beteiligung diese Studie möglich gemacht haben.

Meiner Familie, meinen Freunden und meinem Partner möchte ich für ihren liebevollen Beistand während des gesamten Studiums und der Promotion danken. Vielen Dank meinen Freunden vom Volleyball, die stets aufmunternde und ermutigende Worte zur Hand hatten, wenn es im Studium oder bei der Promotion mal schwieriger wurde. Ausdrücklich hervorheben möchte ich Johanna Seiz und Kiki Koch, die durch ihre fortwährende Ermutigung und Unterstützung wesentlich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

9 AFFIDAVIT



Eidesstattliche Versicherung

Kornbichler, Selina

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Epigenetik und Schizophrenie:

Quantitative Untersuchungen von Globaler DNA-Methylierung, Globaler DNA-Hydroxymethylierung und Histonmodifikationen bei schizophrenen Erkrankungen

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 01.07.2021

Ort, Datum

Selina Kornbichler

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand